Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

157. BAND, 2. HEFT

MIT 4 ABBILDUNGEN IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 17. JULI 1957)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

J. F. BERGMANN · MÜNCHEN

1957

Z. anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28/30
Fernsprecher 27901
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 157 — **Inhaltsverzeichnis** — Heft 2

Originalabhandlungen — Seite

Kliffmüller, R., Zur Praxis des Thallium-Nachweises 81

Rao, G. Gopala, and **N. Venkateswara Rao,** Induced Reactions in Cerimetry. Part IV. With Indigo Sulphonate as Inductor 85

Maurice, M. J., Vergleich von zwei Methoden zur Bestimmung des Sulfidschwefels. Mit 2 Textabbildungen 89

Rao, K. Bhaskara, and **G. Gopala Rao,** Studies in Ferrimetry. Part I. Determination of Arsenite with Ferric Alum Using Osmium Tetroxide and Iodine Monochloride as Catalysts 96

Rao, K. Bhaskara, and **G. Gopala Rao,** Studies in Ferrimetry. Part II. Determination of Hydroxylamine — Use of Copper Sulphate as Catalyst . . 100

Weiner, R., und **E. Ney,** Komplexometrische Titration von Chrom(III)-Ion 105

Sharma, N. N., Cerate-Chromate Oxidimetry. Part II. Estimation of Formic and Oxalic Acids in their Mixtures 110

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Staatlichen Chemischen Untersuchungsamt Gießen
(Direktor: Oberregierungschemierat Dipl.-Ing. W. Port)

Zur Praxis des Thallium-Nachweises

Von
Richard Kliffmüller

(Eingegangen am 21. Januar 1957)

Bei den gewöhnlich angewendeten Methoden wird der Nachweis des Thalliums durch Fällungsreaktionen und spektralanalytisch geführt. Feigl, Gentil u. Goldstein[4] beschreiben einen fluorescenzchemischen Nachweis, der einfach durchzuführen ist und apparativ lediglich das Vorhandensein einer UV-Lichtquelle erfordert. In den nachstehenden Ausführungen sind die Fragen besprochen, die sich bei der praktischen Anwendung dieser Methode ergeben, nämlich die Störmöglichkeiten und deren Ausschaltung. Auch auf den papierchromatographischen Nachweis und seine technische Verbesserung durch Ätherextraktion des Thallium(III)-salzes wird näher eingegangen.

Im Falle einer, wie später festgestellt wurde, mehrere Wochen zurückliegenden Vergiftung mit den für eine Thalliumintoxikation charakteristischen Krankheitssymptomen sollte in Harn und Haarsubstanz Thallium nachgewiesen werden. Es wurde zunächst nach der von Geilmann[5] angegebenen Methode gearbeitet, nach der aber keine positive Reaktion erhalten werden konnte. Das Verfahren, hier als Vorprobe mit quantitativen Anhalt angewandt, beruht auf einer Fällungsreaktion des Thalliums mit Salzsäure, wobei nach eigenen Versuchen eine Trübung in 10 ml Untersuchungslösung eintritt, wenn mehr als 10 mg Tl vorliegen. Versetzt man die Lösung danach mit Kaliumbromidreagens, so zeigt eine entstehende Trübung mehr als 0,5 mg Tl an. Da in unserem Fall die Reaktion negativ ausfiel, konnten — wenn überhaupt — nur sehr geringe Mengen Thallium vorhanden sein. Zu deren Nachweis schien die von Feigl, Gentil u. Goldstein[4] beschriebene Fluorescenzreaktion des Tetrabromothallium(III)-Ions mit Rhodamin B sehr geeignet, zu deren Bestätigung noch das papierchromatographische Verfahren herangezogen wurde.

1. Fluorescenzreaktion mit Rhodamin B

Thallium gibt nach Überführen in das Tetrabromid-Ion, Umsetzen mit Rhodamin B und Ausschütteln mit Benzol eine orangerote Fluorescenz. Der Nachweis ist außerordentlich empfindlich und wird von den

Autoren als weitgehend selektiv beschrieben; Störungen durch Gold-, Quecksilber- und Antimonionen werden beseitigt, indem man die Ionen durch Kupfer- oder Messingdraht zu den Metallen reduziert.

Arbeitsvorschrift (nach FEIGL u. Mitarb.). In einem Mikroreagensglas wird zu einem Tropfen der Probelösung, die neutral oder schwach salzsauer (nach eigenen Versuchen auch schwefelsauer) reagieren kann, ein Tropfen gesättigtes Bromwasser zugegeben. Der Bromüberschuß wird mit einem Tropfen 10%iger Sulfosalicylsäurelösung entfernt, ein Tropfen Rhodamin B-Lösung (0,05%ig in konz. Salzsäure) und 6—8 Tropfen reinstes Benzol werden zugefügt. Nach Umschütteln wird die violettrote Benzolschicht im UV-Licht betrachtet.

In Anwesenheit von Au, Sb und Hg gibt man zu einem Tropfen der Probelösung einen Tropfen konz. Salzsäure, hängt einen dünnen zur Spirale gebogenen Cu- oder Messingdraht ein und erhitzt 5 min im Wasserbad. Nach etwaigem Filtrieren ist der Nachweis wie oben auszuführen.

Nach FEIGL u. GENTIL[3] zeigen Polynitroverbindungen in der aci-Form und auch Thioverbindungen wie Mercaptobenzthiazol ebenfalls eine orangefarbene Fluorescenz mit Rhodamin B. Diese Störungsmöglichkeit wird durch den Aufschluß der organischen Substanz in der später beschriebenen Weise vermieden.

Nach Untersuchungen von H. ONISHI[7] gibt das mit Thallium in derselben Gruppe des Periodischen Systems stehende *Gallium* auch eine Fluorescenzreaktion mit Rhodamin B im UV-Licht. Die Reaktion tritt zum Unterschied von der Tl-Reaktion auch in Anwesenheit eines Reduktionsmittels ($TiCl_3$) ein.

Die zu untersuchende Lösung soll 6 m an Salzsäure sein, keine oxydierenden Substanzen und kein Nitrat enthalten. Man setzt 0,5 ml 20%ige Titan(III)-chloridlösung zu und läßt 5 min stehen. Danach wird 0,4 ml Rhodamin B-Lösung (0,5%ig in 6 m Salzsäure) hinzugegeben und 1 min mit 2 ml Benzol geschüttelt. Nach Trennung der Schichten wird im UV betrachtet.

Fällt diese Reaktion negativ aus und war die Fluorescenzprobe nach FEIGL (nach Reduktion störender Metallionen) positiv, so ist die Anwesenheit von Thallium wahrscheinlich (sicher ist sie nicht, da auch andere Stoffe zugegen sein könnten, die eine positive FEIGL-Reaktion geben); fallen beide Reaktionen positiv aus, ist mit Gallium allein oder Gallium und Thallium zu rechnen.

In eigenen Versuchen wurde die Reaktion nach FEIGL u. Mitarb. noch mit anderen Kationen ausgeführt, um zu prüfen, welche Ionen eine Fluorescenzerscheinung mit Rhodamin B ergeben (Tab. 1).

Beim Thalliumnachweis darf sich also die Beobachtung nur auf die Benzolschicht beziehen. Mit Rücksicht auf die große Empfindlichkeit der Reaktion müssen sämtliche Glasgeräte und Reagentien (Blindversuch) auf Thallium geprüft werden; die Hauptversuche sind nach dieser Prüfung in den gleichen Gefäßen durchzuführen. Zum Fluorescenzvergleich wird einem Teil der Probelösung Tl-Salz zugesetzt.

Tabelle 1 (k. Fl. = keine Fluorescenz)

Kation	Wäßrige Phase	Benzolphase
Ag	orange	k. Fl.
Pb	schwach violett	k. Fl.
Bi	orange	k. Fl.
Cu	orange	k. Fl.
Cd	stark orange	k. Fl.
As	orange	k. Fl.
Sn	schwach orange	schwach rosa
Pt	violett	k. Fl.
Fe	dunkelorange	sehr schwach orange
Cr	schwach dunkel-violett	k. Fl.
Zn	orange	k. Fl.
Al	dunkelorange	k. Fl.
Ba	schwach orange	k. Fl.
Ca	orange	k. Fl.

2. Papierchromatographischer Nachweis

Mit dem papierchromatographischen (pc) Nachweis von Thallium haben sich vor einiger Zeit besonders DILLER u. REX[2] befaßt. Wie DILLER[1] schon 1953 ausgeführt hat, ist es wichtig, beim Nachweis von Metallionen mit salzarmen Lösungen zu arbeiten. Die zum Aufschluß benötigte Schwefelsäure ist völlig abzurauchen, da sonst das Papier zerstört wird. Da andererseits die Zerstörung der organischen Substanz im Harn mit Schwefelsäure/Perhydrol ziemlich schnell vor sich geht und gut zu beobachten ist, wird diese Arbeitsweise beibehalten.

Um das Thallium aus dem Rückstand des Aufschlusses möglichst rein zu gewinnen, ist folgendes Verfahren angewandt worden. Thallium (III)-chlorid bzw. die entsprechende Tetrachlorosäure ($TlCl_4H$) ist in Äther löslich und kann deshalb aus einer freies Chlor enthaltenden salzsauren Lösung ausgeschüttelt werden (P. A. SHAW[9]). KLUGE[6] benutzt dieses Verhalten des Thallium(III)-chlorids zu einer quantitativen Tl-Bestimmung. Aus den schon oben angeführten Gründen (DILLER[1]) eignet sich jedoch seine Methode nicht für den pc-Nachweis. Es wird daher nachstehende Arbeitsweise empfohlen.

Arbeitsvorschrift. 50 ml Harn werden im Kjeldahl-Kolben auf etwa 8 ml eingedampft, mit 5 ml konz. Schwefelsäure versetzt und bis zur Schwärzung des Kolbeninhalts weitererhitzt. Nach kurzem Abkühlen (etwa 3 min) gibt man 10 ml Perhydrol Merck hinzu und fährt fort zu erhitzen. Der H_2O_2-Zusatz wird mit je 5 ml wiederholt, bis die organische Substanz zerstört ist und die Aufschlußlösung farblos geworden ist. Die Gesamtmenge des Perhydrols wird wegen des Reagentienversuches notiert. Danach ist der Kolbeninhalt in einen Porzellantiegel zu überführen und vorsichtig abzurauchen.

Der Rückstand wird mit 2 ml konz. Salzsäure versetzt und eine Spatelspitze Kaliumchlorat zugegeben. Nach leichtem Erwärmen und Wiederabkühlen wird die

grüngelb gefärbte Lösung zweimal mit je 10 ml Äther ausgeschüttelt oder so lange, bis in der wäßrigen Phase kein Tl mehr nach Feigl nachweisbar ist. Die Ätherauszüge werden vereinigt, mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel bis auf einen kleinen Rest verjagt. Dieser wird dann zum papierchromatographischen Nachweis auf S. & S. Papier Nr. 2043b aufgetragen. Zweckmäßigerweise trägt man den Rest der Ätherausschüttelung für sich allein und zusammen mit Thallium(III)-salz auf, daneben Thalliumsalz (Chlorid) und wiederholt diese Anordnung noch zweimal auf demselben Bogen. Als Fließmittel dient mit n Salzsäure gesättigtes n-Butanol. Es wird aufsteigend chromatographiert.

Sprühmittel: 1. 10%ige Kaliumjodidlösung, ammoniakalisch. 2. 5%ige Thionalidlösung in Aceton (beide nach Diller u. Rex). 3. Reagens nach Feigl a) gesättigte Bromlösung, wäßrig, b) Sulfosalicylsäure, 10%ig in Wasser, c) Rhodamin B, 0,05%ig in konz. Salzsäure.

Beim Sprühen mit Kaliumjodid und Thionalid zeigen sich gelbe Flekken vom R_f-Wert 0,66—0,68, mit Rhodamin B violette Flecken, die aber nach einiger Zeit verblassen. Erstere lassen sich noch nach einem halben Jahr erkennen. Zu beobachten ist, daß nur das Tl^{III}-Ion mit dem angegebenen Fließmittel wandert, während das Tl^{I}-Ion am Start zurückbleibt. Man kann auch den mit Rhodamin B sichtbar gemachten Fleck ausschneiden, mit Benzol im noch feuchten Zustand eluieren und die Fluorescenz im UV-Licht betrachten.

Über das Verhalten der beim papierchromatographischen Nachweis z. T. störend wirkenden forensisch wichtigen Metallionen (Sb, Hg, [Sn], Zn, As, Cu, Pb) haben bereits Diller u. Rex[2] sowie Pfeiffer u. Diller[8] ausführlich berichtet. Auch auf die in diesem Zusammenhang interessierende Arbeit von Sommer[10] sei hingewiesen.

Die Untersuchung des anfangs erwähnten Harns wurde in dieser Weise geführt. Fluorescenzprobe und pc-Nachweis fielen übereinstimmend positiv aus. Zum Vergleich wurden Versuche mit dem Harn einer gesunden Person sowie den Reagentien angestellt, die ein negatives Ergebnis hatten. Mit dem Rückstand der zerstörten Haarsubstanz wurde eine stark positive Fluorescenzreaktion nach Feigl erhalten, die mit dem Haar einer gesunden Person kaum wahrnehmbar dunkelblau (im UV) ausfiel.

Zusammenfassung

1. Es wird eine praktische Anleitung zum Nachweis des Thalliums in Harn und Harnsubstanzgegeben. Mit Hilfe der Fluorescenzreaktion nach Feigl, Gentil u. Goldstein können Bruchteile eines Mikrogramms Thallium erfaßt werden. Auf die Störungsmöglichkeiten und ihre Umgehung bei diesem Nachweis wird eingegangen. Das Verhalten von Ag, Pb, Bi, Cu, Cd, As, Sn, Pt, Fe, Cr, Zn, Al, Ga, Ba und Ca bei der Fluorescenzprobe wird untersucht.

2. Zur Isolierung eines für den papierchromatographischen Nachweis geeigneten Rückstandes nach Zerstören der organischen Substanz im Harn wird die Ätherextraktion des Thallium(III)-chlorids angewandt.

Der Nachweis selbst wird nach Diller geführt. Das Rhodamin B-Reagens kann auch zum Sprühen verwandt werden.

3. Bei der Untersuchung von Harn und Harnsubstanz im Falle einer klinisch manifesten Thalliumvergiftung ist ein positives Ergebnis mit den beschriebenen Reaktionen erhalten worden.

Literatur

[1] Diller, H.: Mitteilungsbl. GDCh-Fachgr. Lebensmittelchemie **1953**, 9; **1954**, 19. — [2] Diller, H., u. O. Rex: diese Z. **137**, 241 (1952/53). — [3] Feigl, F., u. V. Gentil: Analyt. Chemistry **27**, 432 (1955); vgl. diese Z. **149**, 366 (1956). — [4] Feigl, F., V. Gentil u. D. Goldstein: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **9**, 393 (1953); vgl. diese Z. **145**, 57 (1955). — [5] Geilmann, W.: Mitteilungsbl. GDCh-Fachgr. Lebensmittelchemie **1949**, 47 (Referat Nigmann). — [6] Kluge, H.: Z. Unters. Lebensmittel **76**, 156 (1938). — [7] Onishi, H.: Analyt. Chemistry **27**, 832 (1955); vgl. diese Z. **149**, 154 (1956). — [8] Pfeiffer, H., u. H. Diller: diese Z. **149**, 264 (1956). — [9] Shaw, P. A.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **5**, 93 (1933); vgl. diese Z. **98**, 435 (1934). — [10] Sommer, G.: diese Z. **147**, 241 (1955).

Richard Kliffmüller, Lebensmittelchemiker und Apotheker, Gießen/Lahn, Wetzsteinstr. 12

Department of Chemistry, Andhra University, Waltair, India

Induced Reactions in Cerimetry

Part IV*

With Indigo Sulphonate as Inductor

By

G. Gopala Rao and **N. Venkateswara Rao**

(Eingegangen am 14. März 1957)

In parts I[3] and II[1] of this series, it has been shown that cerimetric titrations are not free from the interference of induced reactions as is generally believed. In part I, evidence has been presented to show that the reaction between hydroquinone and ceric sulphate induces the reaction between oxalic acid and ceric sulphate. In part II, it has been shown that oxalic acid interferes with the cerimetric titration of iron(II), particularly so when phosphoric acid is absent. In Part III, evidence has been presented to show that mandelic, tartaric, malic, citric and lactic acids interfere in the cerimetric titration of iron(II). In the present communication, we are presenting evidence to show that oxalic acid interferes with the cerimetric estimation of indigo carmine.

* Part III see Z. analyt. Chem. **156**, 428 (1957).

Experimental

Indigo Carmine Solution. The indigo used in the following experiments is Kahlbaum's synthetic indigo. From this, indigo sulphonate has been prepared as follows:

About one gram of the indigo sample is weighed out accurately into a 100 ml round bottom flask, 15 ml of concentrated sulphuric acid are added and the mixture is heated on a water bath at 90° C for 45 minutes. The resulting sulphonate is then cooled and transferred completely into a 500 ml measuring flask and made upto the mark. The solution thus prepared was standardised according to the cerimetric method proposed by Gopala Rao[2] et al.

Oxalic Acid. The oxalic acid employed in the investigation is a sample of "Analytical Reagent" quality supplied by the British Drug Houses Ltd.

Ceric Sulphate. A solution of ceric sulphate has been prepared from a sample of cerous oxalate not free from rare-earths.

All other chemicals employed in the investigation are of "Reagent" grade chemicals.

In the experiments described below, an aliquot portion of indigo sulphonate solution is taken in an Erlenmeyer flask to which requisite volumes of oxalic acid and sulphuric acid solutions are added. The total volume of the mixture is made upto 100 ml by the addition of water and the mixture titrated with a standard solution of ceric sulphate (1.0 N with respect to sulphuric acid).

The results of experiments on the variation of induction factor with variation in the oxalic acid concentration are recorded in Table 1.

Table 1

X ml of oxalic acid + 5 ml of indigo sulphonate solution + 5 ml of 9 N sulphuric acid + water to make upto 100 ml

Amount of indigo taken in grams	Amount of oxalic acid added in millimoles	Apparent amount of indigo found by cerimetric titration in grams	Induction factor F
0.008250	nil.	0.008240	—
0.008250	0.025	0.008306	0.0080
0.008250	0.050	0.008380	0.0170
0.008250	0.075	0.008454	0.0259
0.008250	0.100	0.008601	0.0438

From the results in Table 1, it is evident that the induction factor increases with increasing concentration of acceptor (oxalic acid), when the concentration of the inductor (indigo sulphonate) is kept constant.

Under ordinary conditions, ceric sulphate does not react rapidly enough with oxalic acid in the cold, as can be seen by the fact that the addition of the first drop of ceric sulphate to a cold acidified solution of oxalic acid produces immediately the color change of the N-phenyl anthranilic acid indicator. But when a known quantity of indigo sulphonate is titrated with ceric sulphate in the presence of oxalic acid, there is an excess consumption of ceric sulphate over and above that required for indigo sulphonate alone. This indicates that the oxidation of indigo sulphonate by ceric sulphate induces the oxidation of oxalic acid by ceric sulphate.

In Table 2, the results of the experiments on the variation of induction factor with variation in the concentration of the inductor (indigo sulphonate) are given.

Table 2

X ml of indigo sulphonate solution + 10 ml of oxalic acid solution + 5.6 ml of 9 N sulphuric acid + water to make upto 100 ml

Amount of indigo taken in grams	Amount of oxalic acid added in millimoles	Apparent amount of indigo found by cerimetric titration in grams	Induction factor F
0.004950	0.075	0.005251	0.0609
0.006600	0.075	0.006975	0.0568
0.008250	0.075	0.008454	0.0259

It will be observed from the results in Table 2, that the induction factor decreases with an increase in the concentration of indigo sulphonate, keeping the concentration of oxalic acid constant.

Influence of Phosphoric Acid on the Induction Factor. The results of experiments conducted to study the influence of phosphoric acid on the induced reaction are recorded in Table 3.

Table 3

X ml of indigo sulphonate solution + 5.6 ml of 9 N sulphuric acid + Y ml of oxalic acid solution + Z ml of syrupy phosphoric acid + water to make upto 100 ml

Amount of indigo taken in grams	Amount of oxalic acid added in millilitres	Volume of syrupy phosphoric acid added in millilitres	Apparent amount of indigo found by cerimetric titration in grams
0.004833	nil	5.0	0.004838
0.004833	10.0	nil	0.005199
0.004833	10.0	2.0	0.004839
0.004833	10.0	3.0	0.004839
0.004833	10.0	4.0	0.004837
0.004833	10.0	5.0	0.004837
0.006444	nil	5.0	0.006449
0.006444	10.0	nil	0.006929
0.006444	10.0	2.0	0.006448
0.006444		3.0	0.006448
0.006444		4.0	0.006446
0.006444		5.0	0.006445
0.008055	nil	5.0	0.008060
0.008055	10.0	nil	0.008408
0.008055	10.0	2.0	0.008059
0.008055	10.0	3.0	0.008057
0.008055	10.0	4.0	0.008058
0.008055	10.0	5.0	0.008058

The results in Table 3 clearly show that phosphoric acid is very effective in counteracting the induced oxidation of oxalic acid in the titration of indigo sulphonate by ceric sulphate.

Influence of Sulphuric Acid Concentration on the Induction Factor. The results of the experiments conducted to study the influence of sulphuric acid concentration on the induced reaction are given in Table 4.

Table 4

3 ml of indigo sulphonate solution + X ml of 9 N sulphuric acid + 10.0 ml of 0.02 N oxalic acid solution + water to make upto 100 ml

Amount of indigo taken in grams	Overall sulphuric acid concentration normality	Amount of oxalic acid added in millimoles	Amount of indigo found by cerimetric titration in grams
0.004950	0.5	0.10	0.005325
0.004950	1.0	0.10	0.005251
0.004950	2.0	0.10	0.004954
0.004950	3.0	0.10	0.004952

It is evident from Table 4 that, at high overall sulphuric acid concentrations, oxalic acid does not interfere in the titration of indigo sulphonate solution with ceric sulphate.

Summary

1. We have found that oxalic acid interferes in the cerimetric estimation of indigo sulphonate. The induction factor increases with increase in the concentration of oxalic acid keeping the concentration of indigo sulphonate constant.

2. The induction factor decreases with increase in the concentration of indigo sulphonate when the concentration of oxalic acid is kept constant.

3. Syrupy phosphoric acid is very effective in suppressing the induced oxidation of oxalic acid in the titration of indigo sulphonate with ceric sulphate.

4. It is observed that a high sulphuric acid concentration suppresses the induced oxidation of oxalic acid.

References

[1] Rao, G. Gopala, P. Jagan Mohan and M. N. Sastri: Z. analyt. Chem. **156**, 336 (1957). — [2] Rao, G. Gopala, Rao, N. Venkateswara, and I. Subramanyam: Z. analyt. Chem. **151**, 353 (1956). — [3] Rao, G. Gopala, and T. P. Sastri: Z. analyt. Chem. **152**, 351 (1956).

Prof. G. Gopala Rao, Dr. Sc., Head of the Department of Chemistry, Andhra University, Waltair (India)

Analytisches Zentral-Laboratorium der N. V. Onderzoekingsinstituut „Research" (A.K.U. und damit verbundene Gesellschaften), Arnhem, Niederlande

Vergleich von zwei Methoden zur Bestimmung des Sulfidschwefels*

Von

M. J. Maurice

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. März 1957)

Bei Untersuchungen des Verfassers betreffend die Bestimmung von Sulfid in Reyon ist es zunächst notwendig gewesen, die Bestimmungsverfahren in reinen Lösungen zu untersuchen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden im folgenden mitgeteilt.

Für die Bestimmung von Sulfid sind viele Methoden bekannt. Unter ihnen befinden sich turbidimetrische[11], spektrophotometrische[2,4,5,10] und volumetrische Methoden[6,7,9,12]. Die turbidimetrischen und spektrophotometrischen Methoden sind abhängige Methoden, d. h. die erhaltenen Resultate müssen immer auf Grund von Ergebnissen, die mit unabhängigen Methoden erhalten worden sind, geeicht werden. Dies gilt auch für die von Pepkowitz[9] beschriebene volumetrische Methode: Schwefelwasserstoff wird in einer Lösung von Hypochlorit absorbiert, wonach der Überschuß des letzteren jodometrisch bestimmt wird. Die Reagentien müssen mit bekannten Mengen Sulfid standardisiert werden.

Unabhängige Methoden zur Bestimmung von Sulfid sind die jodometrische[6,12] und die komplexometrische Methode[7]. Im ersten Fall wird Schwefelwasserstoff in Lösungen von Cd- oder Zn-Salz absorbiert. Das gefällte Sulfid wird danach mit Jod oxydiert und der Überschuß an Jod mit Natriumthiosulfatlösung titriert. Im zweiten Fall wird Schwefelwasserstoff in einer Lösung von Cu-Salz absorbiert und der Überschuß an Kupfer durch komplexometrische Titration bestimmt.

Die letzten zwei Methoden werden in dieser Arbeit für Mengen von 1—10 mg Schwefel miteinander verglichen. Dieser Vergleich wird mit Hilfe statistischer Proben durchgeführt. Die Mittelwerte werden durch Verwendung der t-Probe verglichen. Zur Vergleichung der gefundenen Genauigkeiten gibt es die F-Probe für Standardabweichungen.

Für diese Untersuchungen ist eine Standardlösung von Sulfid erforderlich. Bethge[1] sowie Kirsten u. Carstens[6] stellen eine solche durch Lösen von $Na_2S \cdot 9H_2O$ in ausgekochtem Wasser unter Stickstoff her. Natrium-

* Teil der Dissertation von M. J. Maurice, Amsterdam, Freie Universität, 1956.

sulfid ist aber sehr hygroskopisch und enthält oft Verunreinigungen (z. B. $Na_2S_2O_3$). Darum haben wir die Standardlösung auf andere Art hergestellt.

Wenn auch die jodometrische und die komplexometrische Methode der Sulfidbestimmung dieselben Resultate liefern, ist es doch empfehlenswert, die Richtigkeit der Methoden einwandfrei zu beweisen. Darum haben wir eine zweite Sulfidquelle gesucht, deren Schwefelgehalt in einer unabhängigen Weise ermittelt werden kann. Diese Quelle ist in Natriumthiosulfat, das jodometrisch und oxydimetrisch[3] bestimmt werden kann. Thiosulfat kann anderseits unter bestimmten Bedingungen quantitativ zu Sulfid reduziert werden, wonach dieses komplexometrisch erfaßt werden kann.

Experimentelles

1. Herstellung der Standardsulfidlösung

Es wurde Eisen(II)-sulfid durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in eine ammoniakalische Lösung von Eisen(II)-sulfat bereitet. Der Niederschlag wurde filtriert, ausgewaschen und in einen Destillationsapparat gebracht. Dieser Apparat war mit einer Flasche verbunden, die sauerstofffreie 0,1 n Natronlauge enthielt. Nach Verdrängen der Luft aus dem Apparat mittels eines Stickstoffstromes wurde dem Eisen(II)-sulfid ausgekochte Schwefelsäure zugegeben und der unter Erwärmen der Lösung entwickelte Schwefelwasserstoff mit dem Stickstoff in die Lauge geführt. Die so bereitete Natriumhydrogensulfidlösung wurde unter Stickstoff aufbewahrt. Die Lösung hielt sich wenigstens 2 Wochen unverändert. Nach dieser Zeit konnten noch keine Verunreinigungen, wie Polysulfid, Sulfit, Thiosulfat oder Sulfat nachgewiesen werden. Es sei noch bemerkt, daß der gebrauchte Stickstoff von etwaigen Spuren Sauerstoff durch Waschen mit einer Zinkamalgam enthaltenden Lösung von Vanadium(II)-sulfat befreit wurde.

Der Gehalt dieser Standardlösung wurde nach Arbeitsweise 1 ermittelt.

Arbeitsweise 1. Einem Gemisch von 50 ml 0,01 n Jodlösung und 10 ml 4 n Schwefelsäure wurden 5 ml der Sulfidlösung unter Umschwenken zugegeben, wobei die Pipette ungefähr 1 cm über der Oberfläche der Jodlösung gehalten wurde. Nach 5 min wurde der Überschuß an Jod mit 0,01 n Thiosulfatlösung titriert, wobei Stärkelösung als Indicator verwendet wurde.

2. Die komplexometrische Methode

In drei verschiedenen Mengen der Standardlösung wurde Sulfid nach Arbeitsweise 2 bestimmt.

Arbeitsweise 2. Ein Destillationsapparat nach Abb. 1 wurde mit 2 Gaswaschflaschen verbunden. In beiden Flaschen befanden sich 25 ml einer 0,02 n Kupferacetatlösung, die je Liter 120 ml 4 n Essigsäure enthielt. Eine 1—10 mg Schwefel enthaltende Menge der Standardlösung wurde in den Apparat gebracht, wonach dieser geschlossen und mit Stickstoff durchspült wurde. Nach 15 min wurden der Sulfidlösung 25 ml ausgekochte 4 n Schwefelsäure zugegeben und die Lösung 30 min gekocht. Der entwickelte Schwefelwasserstoff wurde in Kupferacetatlösung absorbiert. Die Verbindung zwischen Destillationsapparat und Waschflaschen wurde aufgehoben, der Inhalt der Flaschen in einen 200 ml-Meßkolben übergespült und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, die ersten

25 ml wurden verworfen und 100 ml des Filtrats mit 2 ml 1%iger Weinsäurelösung, 100 mg Murexid-Indicator (200 mg Murexid mit 50 g wasserfreiem Natriumchlorid p. A. zusammengerieben) und soviel 4 n Ammoniak versetzt, daß die Farbe der Lösung gerade grün wurde. Nach Zugabe weiterer 3 Tropfen 4 n Ammoniak wurde mit 0,01 n ÄDTA-Lösung bis zum Farbumschlag nach Violett titriert.

Die Resultate sind in Tab. 1 zusammengefaßt, wo $\bar{x}_1$ der Mittelwert der Gehaltsbestimmung (Arbeitsweise 1), und $\bar{x}_2$ der Mittelwert von n Bestimmungen nach Arbeitsweise 2 ist.

Tabelle 1

$\bar{x}_1$ (Arbeitsweise 1)	$\bar{x}_2$ (Arbeitsweise 2)	n
4,252 mg S	4,16 mg S	8
7,441	7,51	8
10,630	10,62	8

Mit Arbeitsweise 1 wurde aus 40 Bestimmungen für eine Einzelbestimmung eine Standardabweichung von 0,030 mg S gefunden. Für Arbeitsweise 2 beträgt diese Standardabweichung 0,059 mg S, berechnet aus 24 Bestimmungen. Durch Anwendung der t-Probe ergibt sich, daß zwischen der mittleren Differenz aller $\bar{x}_1$- und $\bar{x}_2$-Werte und Null auf dem 5%-Niveau keine nachweisbare Differenz besteht. Es muß also angenommen werden, daß beide Methoden dieselben Ergebnisse liefern.

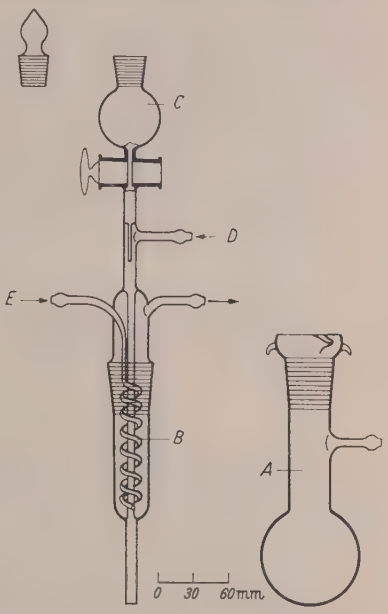

Abb. 1. Destillationsapparat. *A* 250 ml-Kolben; *B* Kühler; *C* Scheidetrichter; *D* Stickstoffeinführung; *E* Wassereinführung

3. Die jodometrische Methode

Diese Methode ist schon zur Gehaltsbestimmung der Standardlösung verwendet worden (Arbeitsweise 1). Die Methode kann aber auch zur Bestimmung von Schwefelwasserstoff, der aus einer sauren Sulfidlösung unter Erwärmen ausgetrieben wird, verwendet werden.

Zuerst wurde der Schwefelwasserstoff in einer ammoniakalischen Zinklösung absorbiert wie von BETHGE[1] angegeben. Wir arbeiteten nach Arbeitsweise 3.

Arbeitsweise 3. Aus bekannten Mengen der Standardlösung wurde Schwefelwasserstoff entwickelt, wie in Arbeitsweise 2 beschrieben. Der Schwefelwasserstoff wurde in 25 ml ammoniakalischer 0,1 n Zinklösung absorbiert. Die Zinklösung mit dem Niederschlag von Zinksulfid wurde einem Gemisch von 50 ml 0,01 n Jodlösung

und 25 ml 6 n Salzsäure zugesetzt. Nach 15 min wurde der Überschuß an Jod mit 0,01 n Natriumthiosulfatlösung titriert.

Die Resultate ($\bar{x}_3$) sind in Tab. 2 zusammengefaßt. Die Standardabweichung einer einzelnen Bestimmung ist 0,13 mg S, also ziemlich groß. Durch Anwendung der t-Probe wurde festgestellt, daß bei den kleinsten Mengen Sulfid auf dem 5%-Niveau systematische Abweichungen auftreten. Dieser Befund wurde gleichfalls erhalten, wenn das Überführen des Schwefelwasserstoffs vermieden wurde, indem die Sulfidlösung unmittelbar der ammoniakalischen Zinklösung zugegeben, und das Gemisch mit dem Niederschlag wie in Arbeitsweise 3 weiter verarbeitet wurde (Arbeitsweise 4). Auch diese Resultate ($\bar{x}_4$) sind in Tab. 2 enthalten. Die Standardabweichung einer einzelnen Bestimmung ist hier 0,018 mg S.

Tabelle 2

$\bar{x}_1$ (Arbeitsweise 1)	$\bar{x}_3$ (Arbeitsweise 3)	n	$\bar{x}_4$ (Arbeitsweise 4)	n
3,669 mg S	4,01 mg S	8	3,879 mg S	4
6,115	6,15	8	6,129	4
8,561	8,59	8	8,562	4

Dieser Fehler kann möglicherweise aus der anfänglich unvollständigen Mischung beim Einbringen der alkalischen Sulfidlösung in die saure Jodlösung erklärt werden. An Stellen, wo eine alkalische Reaktion auftritt, könnte die Oxydation teilweise bis zur Sulfatstufe vorschreiten, was einen zu großen Jodverbrauch verursachen und also einen zu hohen Sulfidgehalt ergeben würde. Auch Bethge[1] hat schon darauf hingewiesen, daß die Mischung der alkalischen Sulfidlösung mit der sauren Jodlösung eine große Schwierigkeit bei dieser Bestimmung ist. Unsere Resultate stehen denn auch mit den Bemerkungen von Bethge[1] im Einklang.

Folgende Versuche können die obengenannte Erklärung erläutern: Bekannte Mengen der Standardlösung wurden einer bei p_H 4 gepufferten Zinkacetatlösung zugegeben. Die Zinklösung mit dem Niederschlag wurde einer sauren Jodlösung zugesetzt und der Überschuß an Jod mit Thiosulfat titriert. Der Mittelwert von vier Bestimmungen war 3,840 mg S. Die Standardabweichung einer einzelnen Bestimmung war 0,038 mg S. Ein Vergleich dieser Ergebnisse mittels der t-Probe mit dem nach Arbeitsweise 1 gefundenen Wert, nämlich 3,818 mg S, zeigt, daß nun auf dem 5%-Niveau keine systematischen Abweichungen nachgewiesen werden können. Danach wurden 24 Bestimmungen nach Arbeitsweise 5 durchgeführt.

Arbeitsweise 5. Aus bekannten Mengen der Standardlösung wurde Schwefelwasserstoff entwickelt, wie in Arbeitsweise 2 beschrieben. Der Schwefelwasserstoff wurde in einem Absorptionsgefäß nach Abb. 2 in einer Mischung von 6 ml 0,15 n Zinkacetatlösung und 6 ml Pufferlösung von p_H 4 absorbiert. Nach der Absorption wurden der Zinklösung 5 ml 0,1 n Jodlösung und 5 ml 2 n Salzsäure zugesetzt und

nach 5 min der Überschuß an Jod mit 0,1 n Thiosulfatlösung unter Durchleiten von Stickstoff titriert. Eine Mikrobürette wurde bei dieser Titration verwendet.

Die Resultate sind in Tab. 3 enthalten. Die Standardabweichung einer Einzelbestimmung ist 0,083 mg S.

Zwischen den $\bar{x}_1$- und $\bar{x}_5$-Werten können mittels der t-Probe auf dem 5%-Niveau keine systematischen Abweichungen nachgewiesen werden. Diese Methode gibt also dieselben Resultate wie die komplexometrische Methode. Die Standardabweichung

Tabelle 3

$\bar{x}_1$ (Arbeitsweise 1)	$\bar{x}_5$ (Arbeitsweise 5)	n
3,818 mg S	3,85 mg S	8
5,727	5,73	8
7,636	7,58	8

der letzten Methode ist etwas kleiner als die der jodometrischen Methode. Eine statistisch nachweisbare Differenz gibt es aber nicht.

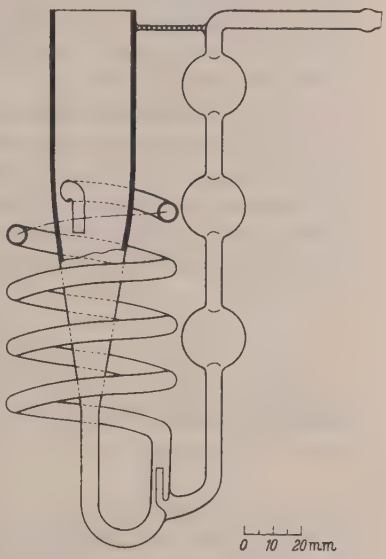

Abb. 2. Absorptionsgefäß

4. Die Reduktion von Natriumthiosulfat

Im vorhergehenden Teil wurde gezeigt, daß die komplexometrische und die jodometrische Sulfidbestimmung dieselben Resultate ergeben. Weil es hier nur zwei Methoden betrifft, ist es unsrer Meinung nach nicht gestattet, hieraus zu schließen, daß die mit den beiden Methoden erhaltenen Ergebnisse wirklich richtig sind. Darum haben wir nach einer Verbindung gesucht, die sich leicht in Schwefelwasserstoff umwandeln läßt und auch nach anderen, unabhängigen Methoden bestimmt werden kann.

Natriumthiosulfat zeigte sich als sehr geeignet zu diesem Zweck. Unter bestimmten Bedingungen läßt sich diese Verbindung mit Zink und Salzsäure quantitativ zu Schwefelwasserstoff reduzieren. Diese Bedingungen sind ziemlich kritisch. Wenn die entworfene Arbeitsvorschrift aber genau angewendet wurde, so wurden quantitative Resultate erhalten.

Weil Natriumthiosulfat an der Luft zu Sulfit, Schwefel und Sulfat oxydiert werden kann und in wäßriger Lösung — durch die Anwesenheit von Kohlensäure im gebrauchten Wasser — Hydrogensulfit und Schwefel zu bilden vermag[8], ist es notwendig, den Gehalt der Standardlösung in zwei unabhängigen Weisen zu bestimmen, damit ermittelt werden kann, ob die Lösung meßbare Mengen der genannten Verunreinigungen enthält.

Der Gehalt wird bestimmt durch jodometrische Titration und durch Oxydation mit alkalischem Kaliumpermanganat und Titration des Überschusses mit Oxalsäure[3], nach Arbeitsweise 6.

Arbeitsweise 6. Einem Gemisch von 50 ml 0,1 n Kaliumpermanganatlösung und 25 ml 10 n Natronlauge wurden 25 ml 0,01 n Natriumthiosulfatlösung zugegeben und die Lösung wurde während 10—15 min auf 40—45° C erwärmt. Nach dem Abkühlen wurden 25 ml Schwefelsäure (1:1) und 50 ml 0,12 n Oxalsäure zugesetzt. Wenn die Lösung sich trübte, wurden 20 ml Mangansulfatlösung (50 g $MnSO_4 \cdot 4\,H_2O$ im Liter) zugesetzt. Blieb die Lösung klar, so fand keine Zugabe statt. Die Lösung wurde auf 50—60° C erwärmt und der Überschuß an Oxalsäure mit 0,1 n Kaliumpermanganatlösung titriert.

Sulfat wird weder nach der einen noch nach der anderen Methode mitbestimmt. Wenn Sulfit und Hydrogensulfit vorhanden sind, werden verschiedene Ergebnisse erhalten. Schwefel reagiert mit alkalischem Kaliumpermanganat, nicht aber mit saurer Jodlösung.

Der Titer der Standardlösung ist nach beiden genannten Methoden bestimmt worden. Die Resultate sind in Tab. 4 gegeben.

Tabelle 4

	jodometrisch	oxydimetrisch
Titer	0,01013 n	0,01016 n
Standardabweichung	$9{,}4 \cdot 10^{-5}$ n	$11{,}6 \cdot 10^{-5}$ n
Anzahl der Bestimmungen	16	16

Eine Differenz zwischen den beiden gefundenen Mittelwerten kann statistisch nicht nachgewiesen werden. Auch gibt es keinen Unterschied zwischen den Standardabweichungen. Als Titer der Lösung wurde 0,01014 angenommen.

Danach wurden 24 Bestimmungen nach Arbeitsweise 7 durchgeführt, wobei verschiedene Mengen der Standardlösung reduziert wurden und der gebildete Schwefelwasserstoff komplexometrisch bestimmt wurde.

Arbeitsweise 7. Eine abgemessene Menge der Standardlösung wurde in einen Destillationsapparat nach Abb. 1 (S. 91) gebracht und 5 g arsenfreies Zink wurden zugegeben. Unter Eiskühlung wurde während 15 min Stickstoff durch den Apparat geleitet; dann wurden, immer im Stickstoffstrom, 25 ml Salzsäure (1:1) in kleinen Portionen im Laufe von 60 min zugegeben. Danach wurde das Gemisch 30 min lang gekocht. Der gebildete Schwefelwasserstoff wurde komplexometrisch nach Arbeitsweise 2 bestimmt. Bei diesen Bestimmungen wurde zwischen dem Destillationsapparat und den beiden Waschflaschen eine dritte Waschflasche mit 2 n Schwefelsäure eingeschaltet, um Salzsäuredämpfe zu absorbieren, so daß diese nicht in die Kupferlösung gelangten.

Es sei bemerkt, daß die Titration des Kupfers mit ÄDTA durch in der Kupferlösung absorbierte Salzsäuredämpfe erheblich gestört wird. Die nach Arbeitsweise 7 erhaltenen Ergebnisse ($\bar{x}_6$) sind in Tab. 5 gegeben.

Die Standardabweichung einer Einzelbestimmung nach Arbeitsweise 7 ist 0,079 mg S. Die gefundenen Mittelwerte weichen auf dem 5%-Niveau nicht systematisch von den berechneten Werten ab. Es soll aber betont werden, daß die Reduktionsmethode sehr viel Zeit in Anspruch nimmt. Die Reduktion allein dauert schon 90 min.

Tabelle 5

Berechnet aus Tab. 4	$\bar{x}_s$ (Arbeitsweise 7)	n
3,250 mg S	3,23 mg S	8
6,495	6,52	8
9,740	9,72	8

Diskussion

Wenn die jodometrische und die komplexometrische Methode zur Bestimmung des Sulfids in einer Lösung von Natriumhydrogensulfid verwendet wurden, so gaben beide Methoden dieselben Resultate. Beide Methoden waren völlig unabhängig voneinander, weil in beiden Fällen verschiedene Maßlösungen verwendet wurden, die auf verschiedene Urstoffe titriert waren.

Natriumthiosulfat zeigte sich als eine brauchbare alternative Schwefelwasserstoffquelle, weil es zu Schwefelwasserstoff reduziert werden kann. Die drei untersuchten Methoden für die Bestimmung des Natriumthiosulfats ergaben alle dieselben Resultate. Auch diese Methoden sind aus demselben Grunde wie oben völlig unabhängig voneinander.

Es muß darum angenommen werden, daß die komplexometrische Methode richtige Resultate liefert. Die Genauigkeit muß befriedigend genannt werden.

Zusammenfassung

Zwei Methoden zur Bestimmung des Sulfids wurden untersucht und verglichen, nämlich die jodometrische und die komplexometrische Methode. Die Richtigkeit letzterer Methode wurde weiter nachgewiesen durch Reduktion von Thiosulfat zu Schwefelwasserstoff, welcher dann komplexometrisch bestimmt wurde. Das verwendete Thiosulfat wurde auch auf zwei verschiedene Arten bestimmt.

Der Autor dankt Herrn Prof. Dr. E. van Dalen der Freien Universität, Amsterdam, für die wertvollen Bemerkungen zu diesen Untersuchungen und der Direktion der N. V. Onderzoekingsinstituut „Research" für die Genehmigung, diese Arbeit zu veröffentlichen.

Literatur

[1] Bethge, P. O.: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **9**, 129 (1953); vgl. diese Z. **144**, 377 (1955). — [2] Bethge, P. O.: Svensk. kem. Tidskr. **64**, 177 (1952); vgl. diese Z. **138**, 201 (1953). — [3] Böttger, W.: Die Chemische Analyse, XXXIII. Band, Neuere maßanalytische Methoden, S. 117. Stuttgart 1951. — [4] Fogo, J. K., and M. Popowsky: Analyt. Chemistry **21**, 732 (1949); vgl. diese Z. **131**, 377 (1950). — [5] Johnson, C. M., and H. Nishita: Analyt. Chemistry **24**, 736 (1952); vgl. diese Z. **139**, 152 (1953). — [6] Kirsten, W., u. C. Carstens: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **5**, 272 (1951); vgl. diese Z. **135**, 453 (1952). — [7] Kivalo, P.: Analyt. Chemistry **27**, 1809 (1955); vgl. diese Z. **152**, 360 (1956). — [8] Kolthoff, I. M., and E. B. Sandell: Textbook of Quantitative Inorganic Analysis, S. 590. New York 1946. — [9] Pepkowitz, L. P.: Analyt. Chemistry **20**, 968 (1948). — [10] Roth, H.: Mikrochem. verein.

Mikrochim. Acta **36/37**, 379 (1951); vgl. diese Z. **135**, 239 (1952). — [11] Treiber, E., H. Koren and W. Gierlinger: Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **40**, 32 (1953); vgl. diese Z. **144**, 378 (1955). — [12] Zimmermann, W.: Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **31**, 15 (1943); **35**, 80 (1950); **40**, 162 (1953); vgl. diese Z. **132**, 300 (1951); **143**, 366 (1954).

Dr. M. J. Maurice, Dr. J. C. Hartogslaan 30[2], Arnhem, Niederlande

---

Department of Chemistry, Andhra University, Waltair, India

Studies in Ferrimetry

Part I

Determination of Arsenite with Ferric Alum Using Osmium Tetroxide and Iodine Monochloride as Catalysts

By

K. Bhaskara Rao and G. Gopala Rao

(Eingegangen am 14. März 1957)

In view of the relatively low oxidation—reduction potential of $Fe^{III} \rightleftharpoons Fe^{II}$ system ferric salts are only mild oxidising agents. The standard redox potential of ferric—ferrous system has been the subject of study from a very long time. Latimer[10] has given a value of 0.771 volts at 25° C. Hence from a consideration of redox potential values, ferric salts are much less powerful than either ceric salts or potassium permanganate in their oxidising power. However, ferric salts have been used as oxidants for analytical purposes in a few situations employing higher temperature. The purpose of this investigation is to enlarge the analytical applications of ferrimetry with the help of catalysts.

Ferric chloride has been used by many investigators[4, 9, 14, 15, 16] for the determination of stannous chloride in a carbon dioxide atmosphere at 70–90° C. In a similar way a ferric alum solution has been titrated with titanous chloride[6, 7, 11, 17] and chromous chloride[17]. The titration of uranium(IV)[12] with a solution of ferric alum is recommended to be carried out at 90–100° C in an inert atmosphere. Bradbury and Edwards[2] showed that in the presence of excess of thiocyanate, mercurous nitrate would reduce iron(III) and could be used for its direct titration, the end point being shown by the disappearence of the blood-red colour of complex ferric thiocyanate. Later Pugh[13] recommended mercurous perchlorate in place of mercurous nitrate, but there seems to be no advantage from this substitution. Recently Belcher and West[1] carried out a somewhat more detailed study of this reaction and established the best conditions for a stoichiometric reaction. They have also investigated the

interferences of foreign ions on the titration. JELLINEK and WINOGRADOFF[5] have made use of the reaction between ferric chloride and sodium thiosulphate for analytical purposes. The iron(III) solution is titrated while hot (about 50°C) with thiosulphate, using methylene blue-fuchsine as indicator. Near the end point, the solution is heated to boiling and the thiosulphate is dropped in carefully until the color changes from blue to red. KOLTHOFF and TOMÍČEK[8] stated that, under the most favourable conditions, the accuracy attained is not greater than 1%. Somewhat better results are reported to be obtained when the titration is carried out at 60-100°C using copper sulphate as catalyst and malonic acid as indicator. ERDEY and BODOR[3] studied the determination of ferric iron with ascorbic acid at 60°C using potassium thiocyanate as indicator and keeping the acid concentration at least 0.1 N.

In this communication, we are describing the ferrimetric determination of arsenite using osmium tetroxide or iodine monochloride to catalyse the reaction. Although the determination of arsenite has been made with various oxidants e. g. iodine, iodate, bromate, permanganate, ceric sulphate and dichromate, the reaction between ferric salts and arsenious acid does not appear to have been studied in regard to its analytical application.

Experimental

A solution of about 0.01 M sodium arsenite is prepared from a sample of Merck's "pro analysi" arsenious oxide.

Approximately 0.05 M ferric ammonium sulphate solution is prepared from a sample of B. D. H. "Analar" ferric alum keeping the sulphuric acid concentration at 1.0 N.

0.01 M osmium tetroxide catalyst is prepared by dissolving 0.2555 g of OsO_4 in 100 ml of 0.1 N sulphuric acid.

0.005 M iodine monochloride solution is prepared in the following way. 0.279 g of potassium iodide and 0.178 g of potassium iodate are dissolved in 250 ml of water and 250 ml of concentrated hydrochloric acid is added immediately. When a few ml of chloroform are added to this solution, no pink color is seen in the organic layer indicating the absence of any free iodine.

It has been observed from preliminary experiments that the reaction between iron(III) and arsenic(III) (in sulphuric acid solution) is very slow. The authors have found that the reaction, at the temperature of the boiling water bath, is greatly accelerated by the use of osmium tetroxide or iodine monochloride as catalyst. Detailed experiments have therefore been carried out to establish the conditions, under which the catalysed reaction serves as a basis for the quantitative determination of arsenic(III).

Osmium Tetroxide Catalysis

It can be seen from the Table 1 that the oxidation of arsenic (III) by ferric salts in acid medium is so remarkably catalysed by osmium tetroxide that the reaction is completed even in 5 minutes at the tempe-

Table 1. *Reaction between Fe^{III} and As^{III} at 98° C*

10 ml of about 0.05 M iron(III) solution + 10 ml of about 0.01 M arsenite solution + dilute sulphuric acid to keep the overall acidity at 0.5 N + water to make up to 50 ml, kept in a flask fitted with a Bunsen valve and heated in the boiling water bath, cooled, suitably acidified and the ferrous iron formed titrated with a standard solution of sodium vanadate, using barium diphenylamine sulphonic acid as indicator.

Amount of arsenite taken = 0.0995 millimoles

Time of reaction in minutes	Amount of arsenite oxidised in millimoles	
	without catalyst	With 5 drops of 0.01 M OsO_4 solution as catalyst
5	nil	0.0994
10	0.0010	0.0995
15	0.0020	0.0995
30	0.0035	0.0997
60	0.0050	0.0996

rature of the boiling water bath; in the absence of the catalyst, there is no measurable oxidation in 5 minutes and only about 0.05 percent oxidation after sixty minutes. The specific advantage of the catalyst is thus evident. The author has also found that the rate of the catalysed oxidation is influenced by the variation in sulphuric acid concentration. The results are given in the Table 2.

Table 2. *Effect of Sulphuric Acid Concentration on the Osmium Tetroxide Catalysed Reaction between Fe^{III} and As^{III} at 98° C*

10 ml of about 0.10 M ferric alum solution + 10 ml of about 0.01 M arsenite solution + 5 drops of 0.01 M osmium tetroxide solution + sulphuric acid to keep the overall acidity at X N + water to make up to 50 ml, kept in a flask fitted with a Bunsen valve, and heated in the boiling water bath.

Amount of arsenite taken = 0.0995 millimoles

Acid concentration	Amount of arsenite oxidised in millimoles		
	5 minutes	10 minutes	15 minutes
0.50 N	0.0994	0.0995	0.0996
0.75 N	0.0990	0.0995	0.0995
1.00 N	0.0905	0.0880	0.0990
2.00 N	0.0400	0.0450	0.0590

It is evident from the above results that the reaction between iron(III) solution and trivalent arsenic (in the presence of osmium tetroxide) is completed in about 5 minutes under the conditions of the experiment provided the sulphuric acid concentration is below 0.75 N. The reaction speed decreases with an increase in the acid concentration. It is, therefore, desirable to keep the overall acidity at about 0.5 N for the rapid quantitative oxidation of trivalent arsenic by ferric iron in the presence of osmium tetroxide as catalyst. A large number of determinations of

arsenite has been made by the ferrimetric method now developed and some typical results are given in Table 3.

Table 3. *Ferrimetric Determination of* As^{III} *Using* OsO_4 *as Catalyst*

Amount of arsenite taken in millimoles	Amount of arsenite found in millimoles
0.0498	0.0496
0.0995	0.0992
0.1492	0.1485
0.1990	0.1984
0.2480	0.2472

Iodine Monochloride Catalysis

Our experiments have shown that iodine monochloride does not catalyse the reaction between iron(III) and arsenic(III) rapidly enough at the room temperature to be useful for analytical purposes. But the catalysed reaction reaches quantitative completion in less than 15 minutes at 98–100°C. A large number of determinations of arsenite has now been made by this procedure. The iron(II) formed by the reduction of iron(III) with arsenite is determined by titration with a standard solution of sodium vanadate using barium diphenylamine sulphonate as indicator. A selection of typical results is given in Table 4.

Table 4. *Ferrimetric Determination of* As^{III} *Using Iodine Monochloride as Catalyst*
X ml of about 0.01 M arsenite solution + Y ml of 0.10 N ferric alum solution + sulphuric acid to keep the overall acidity at 1.0 N + 2 ml of 0.005 M iodine monochloride catalyst + water to make up to 30 ml; heated on a boiling water bath for 15 minutes

Amount of arsenite taken in millimols	Amount of arsenite found in millimols
0.0442	0.0440
0.0663	0.0661
0.0884	0.0882
0.1105	0.1101
0.1226	0.1220
0.1347	0.1342

Summary

1. We have found that ferric alum (when present in slight excess) reacts rapidly with arsenite in 0.5 N sulphuric acid at 98°–100°C when catalysed by osmium tetroxide so that the reaction reaches quantitative completion in about five minutes. The titration of the resulting iron(II) solution enables an accurate determination of the amount of arsenite taken.

2. We have observed that iodine monochloride also acts as a catalyst for the reaction between iron(III) and As(III) in sulphuric acid medium at 98–100° C. This catalysed reaction can also be employed for the determination of arsenite.

References

[1] Belcher, R., and T. S. West: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **5**, 260 (1951); cf. Z. analyt. Chem. **137**, 129 (1952/53). — [2] Bradbury, F. R., and G. E. Edwards: J. Soc. chem. Ind. **59**, 96 (1940). — [3] Erdey, L., and E. Bodor: Analyt. Chemistry **24**, 418 (1952). — [4] Jellinek, K., and W. Kühn: Z. anorg. allg. Chem. **138**, 81 (1924); cf. Z. analyt. Chem. **66**, 275 (1925). — [5] Jellinek, K., and L. Winogradoff: Z. anorg. allg. Chem. **129**, 15 (1923); cf. Z. analyt. Chem. **63**, 140 (1923). — [6] Knecht, E.: Ber. dtsch. chem. Ges. **33**, 1550 (1903); **37**, 3829 (1907). — [7] Kolthoff, I. M.: Recueil Trav. chim. Pays-Bas **43**, 816 (1924); cf. Z. analyt. Chem. **68**, 378 (1926). — [8] Kolthoff, I. M., and O. Tomíček: Pharmac. Weekbl. **61**, 1205 (1924). — [9] Kuchment, M. L., and A. I. Gengrinovich: Zavodskaya Laborat. **7**, 167 (1945). — [10] Latimer, W. M.: Oxidation potentials, S. 223 (1952). — [11] Monnier, A.: Ann. Chim. analyt. Chim. appl. **21**, 109 (1916); cf. Z. analyt. Chem. **68**, 372 (1926). — [12] Orlemann, E. F.: Report; C. D. 2220, Dec. 26, 10 (1944). — [13] Pugh, W.: J. chem. Soc., (London) **1945**, 588. — [14] Rousseau, C.: Gazz. chim. ital. **44**, 1 (1914). — [15] Schluttig, W.: Z .analyt. Chem. **70**, 55 (1927). — [16] Szabó, Z., G., and E. Sugár: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **6**, 293 (1952); cf. Z. analyt. Chem. **138**, 435 (1953). — [17] Thornton jr., W. M., and J. E. Chapman: J. Amer. chem. Soc. **43**, 91 (1921); cf. Z. analyt. Chem. **68**, 373 (1926).

Prof. G. Gopala Rao, Dr. Sc., Head of the Department of Chemistry, Andhra University, Waltair, India

---

Department of Chemistry, Andhra University, Waltair, India

Studies in Ferrimetry

Part II

Determination of Hydroxylamine — Use of Copper Sulphate as Catalyst

By

K. Bhaskara Rao and G. Gopala Rao

(Eingegangen am 14. März 1957)

Hydroxylamine yields different reaction products with different oxidants and even with the same oxidant under varying conditions.

Kurtenacker and Neusser[5] have shown that hydroxylamine gives nitrite, nitrous oxide and nitrogen, when treated with excess of permanganate in alkaline solution. In neutral or slightly acid solution, nitrous oxide is reported to be the only reaction product. But when the acid concentration is increased, nitric acid appears as one of the reaction products. Kurtenacker and Wengefeld[7] studied the oxidation of hydroxylamine with potassium dichromate in both acid and alkaline solutions. When boiled with excess of potassium dichromate in weakly acid solution, about 50 per cent of the hydroxylamine is oxidised to nitric acid, 2 to 4% to nitrogen and the rest to nitric oxide and nitrous oxide. The relative proportions of nitric oxide and nitrous oxide depend upon the acid concentration. In concentrated acid

medium the nitric acid decreases to 20 to 30%. In alkaline solution oxidation to nitric acid amounts to only 8—10%, nitrogen appears to the extent of 10 to 20 per cent and nitric oxide does not form. KURTENACKER and WAGNER[6] reported that hydroxylamine is quantitatively oxidised to nitric acid when treated with an excess of potassium bromate solution.

BENRATH and RULAND[1] investigated the oxidation of hydroxylamine with ceric sulphate. They found nitrous oxide and nitrogen among the products. But COOPER and MORRIS[3] carried out the cerimetric estimation of hydroxylamine, assuming that it is quantitatively oxidised to nitrous oxide.

The reaction between iodine and hydroxylamine has been investigated by many workers[1–6]. The reaction may be represented as follows:

$$2NH_2OH + 2I_2 = N_2O + 4HI + H_2O .$$

It has been found that the reaction is slow in acid medium and that it proceeds rapidly in a medium buffered with an excess of sodium bicarbonate or disodium phosphate. BRAY and coworkers[2] reported that even in the presence of excess of disodium phosphate the reaction speed becomes slow towards the end. They stated that positive errors are the rule rather than the exception. The errors are attributed to the oxidation of hydroxylamine proceeding beyond the nitrous oxide stage to form nitrite, thus confirming the earlier observation of HAGA[4].

MEYERINGH[9] is perhaps the first to propose the use of ferric salt for the determination of hydroxylamine. His method consisted in boiling a known volume of hydroxylamine solution with excess of ferric alum in the presence of sulphuric acid, cooling and titrating the ferrous iron formed with a standard solution of potassium permanganate. Nitrous oxide is believed to be the only product of the reaction. RASCHIG[10] pointed out that this method gives satisfactory results only when a large excess of ferric salt (about 3 times) is used, while keeping the sulphuric acid concentration at about 1 N. He emphasized that large errors appear, if the permanganate is added before the reaction with ferric alum is completed. According to LEUBA[8] the magnitude of this error is very high. RASCHIG[10] recommended the following procedure for the ferrimetric determination of hydroxylamine:

20 ml of about 0.1 N hydroxylamine sulphate solution are mixed with 50 ml of about 0.1 M ferric sulphate solution and 15 ml of 12 N sulphuric acid, boiled vigorously for 5 min, cooled and titrated (at a dilution of about 100 ml) with decinormal permanganate solution. BRAY and coworkers[2] report that this method gives accurate results.

We have now carried out a somewhat more detailed investigation on this reaction and developed an improved method for the ferrimetric determination of hydroxylamine employing copper sulphate as a catalyst.

Experimental

About 0.025 M hydroxylamine hydrochloride solution is prepared from E. Merck's "G. R. grade" hydroxylamine hydrochloride.

An aqueous solution of about 0.05 M ferric alum is prepared from a B. D. H. "Analar" grade ferric ammonium sulphate. No additional acid is added in making up this solution. The p_H of this solution is found to be about 3.

An approximately 1% solution of B. D. H. "Analar" grade copper sulphate is used as catalyst.

Influence of Acid Concentration on the Reaction between Hydroxylamine and Iron(III) at 28° C.

The results of the experiments carried out in this connection are recorded in Table 1. All calculations are made on the basis that iron(III) oxidises hydroxylamine to nitrous oxide.

Table 1

10 ml of about 0.05 M ferric alum solution + 5 ml of 0.025 M hydroxylamine hydrochloride solution + X ml of dilute sulphuric acid + water to make up to 50 ml kept for varying times at the room temperature, and the iron(II) formed titrated with a standard solution of sodium vanadate using barium diphenylamine sulphonic acid as indicator

Amount of hydroxylamine taken = 0.1250 millimoles

Overall acid concentration of the mixture	Amount of hydroxylamine oxidised in millimoles	
	1 hour	15 hours
$1 \cdot 10^{-2.5}$ N	0.1160	0.1198
0.10 N	0.0405	0.1052
0.25 N	0.0286	0.0455
0.50 N	0.0154	0.0375
1.00 N	0.0108	0.0183

It can be seen from the results in Table 1 that the speed of the reaction between hydroxylamine and iron(III) decreases with an increase in the acid concentration. In the presence of 0.1 N acid, the reaction does not reach completion even in 15 hours, whereas the reaction proceeds rapidly in the absence of any added acid. Copper sulphate remarkably catalyses the reaction. This will be evident from the results recorded in Table 2.

Table 2. *Cu(II) Catalysed Reaction between Hydroxylamine and Iron(III) at 28° C.*
10 ml of 0.05 M ferric alum solution + 5 ml of 0.025 M hydroxylamine hydrochloride solution + water to make up to 50 ml

Amount of hydroxylamine taken = 0.1250 millimoles

Time of reaction in minutes	Amount of hydroxylamine oxidised in millimoles	
	without catalyst	with catalyst (5 ml of 1% $CuSO_4$) soln.
5	0.0795	0.1246
10	0.0896	0.1248
15	0.0975	0.1248
30	0.1024	—
60	0.1160	—
120	0.1190	—

The results from Table 2 show that hydroxylamine is quantitatively oxidised by iron(III) in about 5 min in the presence of copper sulphate as catalyst, provided no additional mineral acid is added to the reaction

mixture. The p_H-values of the experimental mixtures of iron(III) and hydroxylamine hydrochloride have been found to vary between 2.5 and 3.0. It can be also seen from the results that when the reaction is carried out in the absence of the catalyst, about 64 per cent of the hydroxylamine is oxidised in the first five minutes but the reaction does not reach completion even after the lapse of two hours. We believe that this is due to the great retardation of the reaction by the acid liberated in the reaction: $2NH_2OH \cdot HCl + Fe_2(SO_4)_3 + H_2O = N_2O + 3H_2O + 2FeSO_4 + 2HCl + H_2SO_4$. The retarding influence of acid is also observed in the copper(II) catalysed reaction as is evident from the results in the Table 3.

Table 3. *Influence of Acid Concentration on the Copper Sulphate Catalysed Reaction between Ferric Alum and Hydroxylamine*

Amount of hydroxylamine hydrochloride taken = 0.1250 millimoles

Overall sulphuric acid concentration	Amount of hydroxylamine oxidised in millimoles	
	1 hour	15 hours
$1 \cdot 10^{-2.5}$ N	Reaction takes only five minutes for completion	
0.10 N	0.1065	The reaction is completed in 2 hours
0.25 N	0.0547	0.0895
0.50 N	0.0312	0.0556
1.00 N	0.0230	0.0308

Influence of Variation in the Catalyst Concentration

The results (Table 4) indicate that the oxidation of hydroxylamine by iron(III) is complete in about 5 min, if 4–5 ml of 1% copper sulphate solution are added as catalyst. The reaction takes more time for completion if the concentration of the catalyst is lowered.

Table 4

10 ml of 0.05 M ferric alum solution + 5 ml of 0.025 M hydroxylamine hydrochloride solution + X ml of 1% copper sulphate solution + water to make up to 50 ml; kept for varying times and titrated with a standard solution of sodium vanadate

Amount of hydroxylamine taken = 0.1250 millimoles

Volume of 1% copper sulphate solution in ml	Amount of hydroxylamine oxidised in millimoles		
	5 min	10 min	15 min
0.5	0.0645	0.0946	0.1128
1.0	0.0915	0.1158	0.1247
2.0	0.1127	0.1220	0.1248
3.0	0.1221	0.1248	0.1246
4.0	0.1249	0.1246	0.1245
5.0	0.1248	0.1247	0.1245

We have also found that the ferric alum should be taken at a concentration at least double that of the hydroxylamine, otherwise the speed of the reaction becomes slow.

A large number of experiments have been carried out for the determination of hydroxylamine by this catalysed ferrimetric method now developed. Some typical results are given in Table 5.

Table 5

X ml of about 0.05 M ferric alum solution + Y ml of about 0.025 M hydroxylamine solution + 5 ml of about 1% copper sulphate solution + water to make up to 50 ml; kept for 5—10 min at the room temperature, acidified with dilute sulphuric acid and titrated with a standard solution of sodium vanadate

Amount of hydroxylamine taken in millimoles	Amount of hydroxylamine found in millimoles as per the equation $2NH_2OH \xrightarrow{+2(O)} N_2O + 3H_2O$
0.0623	0.0621
0.0935	0.0932
0.1246	0.1241
0.1557	0.1550
0.1869	0.1864
0.2492	0.2485
0.3115	0.3110

The results (Table 5) show that ferric alum can be used as a satisfactory oxidimetric reagent for the estimation of hydroxylamine at the room temperature employing copper sulphate as a catalyst.

Summary

We have found that ferric alum oxidises hydroxylamine quantitatively and rapidly to nitrous oxide, even at the room temperature, if 1 ml of 5% copper sulphate is used as catalyst per 50 ml of reaction mixture. The resultant ferrous salt can be determined by titration with a standard solution of sodium vanadate.

References

[1] Benrath, A., and K. Ruland: Z. anorg. allg. Chem. **114**, 267 (1920). — [2] Bray, W. C., M. E. Simpson and A. A. MacKenzie: J. Amer. chem. Soc. **41**, 1363 (1919); cf. Z. analyt. Chem. **62**, 57 (1923). — [3] Cooper, S. R., and J. B. Morris: Analyt. Chemistry **24**, 1360 (1952); cf. Z. analyt. Chem. **140**, 380 (1953). — [4] Haga, T.: J. chem. Soc. (London) **51**, 794 (1887); cf. Z. analyt. Chem. **35**, 597 (1896). — [5] Kurtenacker, A., and R. Neusser: Z. anorg. allg. Chem. **130**, 199 (1923); **131**, 27 (1923); cf. Z. analyt. Chem. **78**, 74 (1929). — [6] Kurtenacker, A., and J. Wagner: Z. anorg. allg. Chem. **120**, 261 (1922); cf. Z. analyt. Chem. **62**, 57 (1923). — [7] Kurtenacker, A., and F. Wengefeld: Z. anorg. allg. Chem. **141**, 119 (1924). — [8] Leuba, A.: Ann. Chim. analyt. Chim. appl. **9**, 246 (1904); cf. Z. analyt. Chem. **46**, 259 (1907). — [9] Meyeringh, W.: Ber. dtsch. chem. Ges. **10**, 1940 (1877); cf. Z. analyt. Chem. **18**, 345 (1879). — [10] Raschig, F.: Liebigs Ann. Chem. **241**, 191 (1887); cf. Z. analyt. Chem. **57**, 417 (1918).

Prof. G. Gopala Rao, Dr. Sc., Head of the Department of Chemistry, Andhra University, Waltair (India)

Universität Innsbruck und Laboratorium der Chlorat-Chemie GmbH.,
Werk Zirl, Tirol

Komplexometrische Titration von Chrom(III)-Ion

Von
R. Weiner und E. Ney

(Eingegangen am 1. April 1957)

Die analytische Bestimmung von Cr^{3+} bietet im allgemeinen keine Schwierigkeiten. Sie ist unmittelbar gravimetrisch möglich durch Fällung von $Cr(OH)_3$, rascher durch Oxydation in bekannter Weise zu CrO_4^{2-}, das maßanalytisch auf verschiedene Art bestimmt werden kann. Die meisten Fremdmetalle stören bei der maßanalytischen Bestimmung der Chromsäure nicht oder können verhältnismäßig leicht eliminiert werden. Auch die Bestimmung von dreiwertigem Chrom neben Chromationen bietet grundsätzlich keine Schwierigkeiten, da die Titration von CrO_4^{2-} durch Cr^{3+} nicht gestört wird, so daß Chromat- und Gesamtchrom unmittelbar titrimetrisch und dreiwertiges Chrom aus der Differenz bestimmt werden können. Unangenehmer wird die Analyse dann, wenn extreme Mischungsverhältnisse vorliegen, und zwar vor allem in der Art, daß Chromation bei weitem überwiegt. Nun sind aber gerade diese Zusammensetzungen bei den technisch vorliegenden Lösungen sehr häufig anzutreffen. Galvanische Chrombäder enthalten neben überwiegend Chromsäure nur etwa $^1/_{100}$ der gesamten Chrommenge als dreiwertiges Chrom; Bäder zum anodischen Polieren enthalten ebenfalls oft nur sehr wenig dreiwertiges Chrom neben einem großen Überschuß von Chromsäure, und ähnlich Eloxierbäder und verschiedene Metallbeizen für Magnesium, Zink u. a. m. Der Gehalt an dreiwertigem Chrom kann in diesen Lösungen oft ihre technische Arbeitsweise entscheidend beeinflussen, so daß die rasche Cr^{III}-Bestimmung vielfach nötig ist. Auch regenerierte Chromsäurelösungen, die zur Oxydation vor allem organischer Substanzen dienen, enthalten wenig dreiwertiges Chrom neben einem starken Überschuß von Chromationen.

Die an sich etwas langwierige gravimetrische Bestimmung von Cr^{3+} ist in Lösungen, die daneben noch Chromationen enthalten, erst nach deren Abtrennung möglich. Die schnelle maßanalytische Bestimmung aus der Differenz von Gesamtchrom und Chromatchrom hat den Nachteil, daß die geringe Menge von Cr^{3+} aus der Differenz zweier großer Werte ermittelt wird, daher mit erheblicher Ungenauigkeit behaftet ist. Auch die Verbesserung dieser Methode durch Abtrennung des Hauptteiles der Chromsäure bringt nur einen Teilerfolg. Hierbei wird durch Fällung mit

Ammoniak das Cr^{3+} gemeinsam mit etwas CrO_4^{2-} als Gemisch von Chromhydroxyd und -chromat ausgefällt, abfiltriert und wieder gelöst. Aus dieser Lösung, in der das Mischungsverhältnis $Cr^{3+} : CrO_4^{2-}$ wesentlich weniger ungünstig ist, erfolgt nun in üblicher Weise die Bestimmung der beiden Ionen[3]. Die vorherige Trennungsoperation kompliziert jedoch die Methode wesentlich.

Durch elektrometrische Titration ist die unmittelbare Bestimmung von dreiwertigem Chrom nach H. H. Willard und Ph. Young[9] möglich, indem man mit gemessenem Überschuß von Ce^{IV}-Sulfat oxydiert und den Überschuß mit Natriumnitrit zurücktitriert. Diese Methode stellt jedoch apparative Ansprüche und ist zudem auch mit sonstigen Unbequemlichkeiten verbunden, so daß der Wunsch nach einer raschen und einfachen maßanalytischen Methode für die Trennung von Cr^{3+} und CrO_4^{2-} nach wie vor besteht.

Die großen Erfolge, die in den letzten 10 Jahren die Einführung der chelatometrischen Titrationsmethoden bei der unmittelbaren raschen Bestimmung verschiedener Metalle gebracht hat, legen es nahe, auch Cr^{3+} auf diese Weise zu bestimmen. Ein Hinweis auf diese Möglichkeit findet sich bei G. Schwarzenbach[6]. Wegen der verhältnismäßig langsamen Bildung des Chelatkomplexes von dreiwertigem Chrom ist die unmittelbare Titration nicht möglich und Schwarzenbach denkt daher an Substitutionstitration. Diese würde hier darauf beruhen, daß die Lösung des Cr^{3+} mit dem Chelatkomplex von Magnesium mit Äthylendiamintetraessigsäure (ÄDTE) gekocht und danach das dabei freigewordene Magnesium mit ÄDTE-Salz (ÄDTA) und dem Indicator Eriochromschwarz T bestimmt wird. Der Austausch des Magnesiums gegen Chrom im Komplex beruht auf der großen Verschiedenheit der Stabilitätskonstanten der Komplexe von Cr^{3+} und Mg^{2+}. Bei starkem Überschuß von Chromationen ist jedoch der Farbumschlag am Endpunkt der Titration undeutlich. Außerdem ist die Herstellung eines einwandfreien Magnesium-ÄDTA-Komplexes sehr umständlich.

Eine andere chelatometrische Methode, ebenfalls von Schwarzenbach[7] herrührend, beruht auf der Umsetzung von Cr^{3+} mit dem Dinatriumsalz von ÄDTE und Titration der dabei freiwerdenden Säure mit Natronlauge. Die Methode setzt voraus, daß die Lösung sowohl vor dem Zusatz des ÄDTA, als auch bei der nachherigen Titration jeweils auf einen genau definierten p_H-Wert eingestellt wird. Durch das Vorhandensein von überschüssiger Chromsäure wird jedoch diese Einstellung so gut wie unmöglich gemacht, da sowohl potentiometrische, wie colorimetrische Methoden weitgehend versagen. Zudem ist diese Methode selbst bei Abwesenheit von Chromat in der praktischen Durchführung etwas umständlich.

Mit der chelatometrischen Titration von Cr^{3+} befassen sich noch zwei Arbeiten von P. Wehber[8] und von G. Doppler u. R. Patzak[2]. In beiden

Fällen wird zunächst durch überschüssiges ÄDTA das Chrom in Chelat übergeführt und anschließend überschüssiges ÄDTA mit Eisen zurücktitriert. Der Endpunkt wird im einen Fall mit einem Farbindicator (Zersetzungsprodukt von BINDSCHEDLERS Grün) im anderen Fall potentiometrisch bestimmt. Abgesehen von der schwierigen Beschaffung des Indicators ist der Farbumschlag im ersten Falle rotviolett nach blauviolett, der zudem sehr beleuchtungsempfindlich ist, etwas unsicher. Die potentiometrische Titration stößt vor allem bei Gegenwart von Chromsäure auf Schwierigkeiten. Zu verweisen wäre auch noch auf eine photometrische Bestimmung von Cr^{3+} nach W. NIELSCH u. G. BÖLTZ[1], die Eigenfärbung des Komplexes von Chrom mit ÄDTE ausnützend.

Die erwähnten Schwierigkeiten (langsame Komplexbildung, ungenaue p_H-Einstellung) veranlaßten uns, eine eigene Rezeptur für die chelatometrische Bestimmung des Cr^{3+} zu suchen. Das Prinzip der Methode besteht darin, daß Cr^{3+}-Lösung mit einem gemessenen Überschuß des Chelatbildners versetzt und zur Beschleunigung und Vervollständigung der Komplexbildung einige Minuten gekocht wird. Der überschüssige Komplexbildner wird hierauf durch Titration mit einem geeigneten Metallion unter Zusatz eines entsprechenden Indicators zurücktitriert. Als geeigneter Chelatbildner hat sich das Dinatriumsalz von ÄDTA erwiesen. Die Stabilitätskonstante seines Chromkomplexes beträgt 10^{23}. Die Rücktitration des überschüssigen freien ÄDTA muß daher mit einem Metall erfolgen, dessen Stabilitätskonstante wesentlich niedriger liegt, um eine teilweise Zerlegung des Chromkomplexes durch dieses Metall zu vermeiden. Als solche Metalle kommen u. a. in Frage: Magnesium ($\lg K = 8{,}69$, K = Stabilitätskonstante), Erdalkalimetalle (Stabilitätskonstanten von gleicher Größenordnung), Zink ($\lg K = 16{,}5$). Diese Metalle scheiden aber praktisch aus, weil sich Schwierigkeiten bei der Endpunktsbestimmung ergeben. Dagegen hat sich Nickel als brauchbar erwiesen. Seine Stabilitätskonstante ($\lg K = 18{,}62$) liegt zwar wesentlich höher als die der erstgenannten Metalle, aber immer noch weit genug von der des Chroms entfernt. Als Farbindicator, der einen auftretenden Überschuß von Nickelionen anzeigt, dient Murexid, das mit Nickel eine lebhafte Orangefärbung gibt.

Arbeitsvorschrift. Erforderliche Lösungen: 0,1 m ÄDTA-Lösung (durch unmittelbare Einwaage hergestellt). 0,01 m Nickelsulfatlösung (auf 0,1 m ÄDTA eingestellt). Pufferlösung für p_H 10: 14 g NH_4Cl + 114 ml Ammoniaklösung (D 0,9) auf 200 ml aufgefüllt. Indicator: 1 Teil Murexid mit 200 Teilen NaCl p. a. trocken verreiben. Die ÄDTA-Lösung wird, wie bekannt, zweckmäßig in Polyäthylenflaschen aufbewahrt. Auf die vollständige Abwesenheit von Erdalkalien in den Reagentien und im destillierten Wasser ist unbedingt zu achten.

Die zu analysierende Chromlösung wird auf etwa 0,01 m verdünnt, mit gemessenem Überschuß ÄDTA-Lösung versetzt und erhitzt. Man erkennt einen ab etwa 65°C allmählich einsetzenden Farbumschlag nach Rotviolett zufolge des Eintritts der Komplexbildung. Die Lösung wird etwa 10 min kochend erhalten.

Nachher wird diese Lösung des Chromkomplexes 1:25 verdünnt. Man entnimmt dann hiervon aliquote Teile von 10 ml, verdünnt noch mit 100 ml Wasser (stärkere Verdünnungen sind zu vermeiden) und versetzt mit 5 ml Pufferlösung (p_H 10), wobei sehr starke Aufhellung eintritt, so daß die Lösung blaßblau, fast farblos erscheint. Man erhitzt nun auf etwa 40° C, fügt etwa 150 mg (eine Spatelspitze) festes Indicatorgemisch dazu, wodurch die Lösung lebhaft violett wird und titriert nun rasch mit Nickellösung bis zum Farbumschlag nach Gelborange. Bei zu langsamem Titrieren bleicht der Indicator in der warmen Lösung zufolge Hydrolyse allmählich aus, man muß dann noch etwas Indicator nachgeben. Wenn dagegen in der Kälte titriert wird, muß beim Äquivalenzpunkt nach jedem Zugeben von Titerflüssigkeit eine Weile gewartet werden, bis die Reaktion abgelaufen ist, so daß die Erwärmung vorzuziehen ist. Der Farbumschlag erfolgt von Violett über rötliche Töne nach Gelborange und ist sehr gut identifizierbar und auch bei Kunstlicht nicht beeinträchtigt. Der Äquivalenzpunkt ist auf 2 Tropfen 0,01 m Nickellösung ohne weiteres erkennbar.

Analysenergebnisse. Die angewandte Cr^{3+}-Menge betrug jedesmal 32,2 mg als $CrCl_3$. Dazu wurden 10 ml 0,1 m ÄDTA-Lösung gegeben, gekocht, verdünnt, gepuffert und mit 0,0136 m Nickelsulfatlösung wie angegeben zurücktitriert (vgl. Tab. 1).

Tabelle 1

Verbr. ml Ni-Lösung	1,1	1,1	1,2	1,1	1,05	1,15	1,1	1,0	1,2	1,1	1,05
entspr. mg Cr	32,5	32,5	30,7	32,5	33,4	31,6	32,5	34,3	30,7	32,5	33,4

Verbr. ml Ni-Lösung	1,15	1,15	1,2	1,15	Mittel 1,12
entspr. mg Cr	31,6	31,6	30,7	31,6	32,14

Den Einfluß eines wechselnden ÄDTA-Überschusses bei der Bereitung des Chromchelates zeigt Tab. 2. Es sind jeweils 32,2 mg Cr^{3+} angewandt worden; der theoretische Verbrauch hierfür beträgt 6,2 ml 0,1 m ÄDTA-Lösung.

Tabelle 2

Angew. Menge 0,1 m ÄDTA-Lösung ml	Verbr. ml 0,0136 m Ni-Lösung	Mittel	mg Cr
10	1,2		
10	1,1	1,12	32,2
10	1,05		
10	1,15		
15	2,6	2,65	31,1
15	2,7		
20	4,15		
20	4,15	4,14	30,7
20	4,1		
20	4,15		

Die Tab. 2 zeigt, daß sich größere Überschüsse von ÄDTA etwas ungünstig auswirken und Anlaß zu niedrigeren Chromwerten geben. Wenn daher der Chromgehalt der Lösung nicht annähernd bekannt ist, empfiehlt sich, nach einer ersten orientierenden Titration mit stärkerem ÄDTA-Überschuß zur genauen Bestimmung eine weitere Titration mit nur kleinem Überschuß durchzuführen.

Die Anwesenheit von *Chromationen*, auch in sehr großem Überschuß, wie er in technisch üblichen Lösungen vorkommt (etwa 1:100), stört nicht, weil in der vorliegenden Verdünnung die Färbung des Chromations nicht wesentlich von der durch den Indicator verursachten Färbung abweicht und der Farbumschlag daher nicht beeinträchtigt wird. Dadurch ist eine wertvolle Möglichkeit zur Bestimmung geringer Cr^{3-}-Mengen neben viel CrO_4^{2-} gegeben.

Als weitere Verunreinigungen kommen folgende in Betracht: *Eisen*, *Aluminium*. Geringe Mengen werden nach Schwarzenbach[6] mit Triäthanolamin getarnt. Größere Mengen müssen chemisch abgetrennt werden. Über die chelatometrische Bestimmung von Eisen in solchen Lösungen mit ÄDTA und Indicator Tiron siehe bei H. W. Dettner[1]. *Kupfer*. Es wird mit Cyanid getarnt, wodurch es in die unwirksame einwertige Form umgewandelt wird, oder nach O. Samuelson u. E. Sjöström[5] mit 2,3-Dimercapto-1-Propanol ($CH_2SH \cdot CHSH \cdot CH_2OH$, BAL, British-Anti-Lewisite). Letzteres Reagens ist insbesondere auch geeignet zur Maskierung von *Zink*, dessen störende Wirkung mit Cyanid wegen der geringen Beständigkeit seines Cyankomplexes nicht beseitigt werden kann. *Nickel*, das als Titersubstanz dient, darf in der zu analysierenden Lösung nicht zugegen sein und muß vor der chelatometrischen Analyse entfernt werden. Auch *Erdalkalien* dürfen nicht anwesend sein.

Literatur

[1] Dettner, H. W.: Metalloberfläche **11**, 12 (1957). — [2] Doppler, G., u. R. Patzak: diese Z. **152**, 45 (1956). — [3] Langford, K. E.: Die Analyse galvanischer Bäder (deutsch von R. Springer), S. 57 f. Saulgau/Württ.: Eugen G. Leuze 1957. — [4] Nielsch, W., u. G. Böltz: Metall **10**, 916 (1956); vgl. diese Z. **155**, 374 (1957). — [5] Samuelson, O., and E. Sjöström: Analyt. Chemistry **26**, 1908 (1954); vgl. diese Z. **148**, 195 (1955/56). — [6] Schwarzenbach, G.: Die komplexometrische Titration, S. 95. II. Aufl. Stuttgart: Enke 1956. — [7] Schwarzenbach, G., und W. Biedermann: Helv. chim. Acta **31**, 459 (1948). — [8] Wehber, P.: diese Z. **150**, 186 (1956). — [9] Willard, H. H., and Ph. Young: Trans. electrochem. Soc. **67**, 347 (1935).

Prof. Dr.-Ing. R. Weiner, Innsbruck, Freisingstr. 3 (Österreich)

Chemical Laboratories, The University of Allahabad, Allahabad, India

Cerate-Chromate Oxidimetry

Part II*

Estimation of Formic and Oxalic Acids in their Mixtures

By

N. N. Sharma

(Eingegangen am 25. März 1957)

A large number of earlier workers[1, 8, 11] and also the author[4, 7] have demonstrated that formic acid is not affected by sulphato-cerate in dilute sulphuric acid solution even on boiling. However, oxalic acid[2, 3, 10, 12] is oxidised quantitatively to carbon dioxide and water by the reagent under the above conditions.

Later it has further been shown by the author that formic acid[7] could be oxidised to carbon dioxide and water in the presence of chromium as a catalyst and large excess of concentrated sulphuric acid.

In view of the two definite stages for the oxidation of oxalic and formic acids it has been possible to develop a method for the estimation of these acids when present together in a mixture.

In the present method, a measured volume of the mixture of the two acids is refluxed for 5 min, as described earlier[5, 6], with an excess of sulphato-cerate solution. It has been shown in Table 1 that under these conditions only oxalic acid is oxidised as

$$H_2C_2O_4 + O = H_2O + 2CO_2 \qquad (1)$$

The same volume of the mixtures of the two acids was then refluxed for 50—80 min with a known excess of sulphato-cerate in the presence of a few drops of chrome alum 1% and concentrated sulphuric acid. It has been seen that both oxalic and formic acids are quantitatively oxidised to carbon dioxide and water by the above treatment.

$$\begin{aligned} H_2C_2O_4 \quad &+ O = H_2O + 2CO_2\,, \\ HCOOH &+ O = H_2O + \quad CO_2\,. \end{aligned} \qquad (2)$$

A combination of the above two treatments, therefore, provides a very simple method for the titration of mixtures of oxalic and formic acids. The first titre value obtained above is equivalent to the amount of oxalic acid and the difference in the two titre values is equivalent to the amount of formic acid.

* Part I: see Z. analyt. Chem. **154**, 340 (1957).

Materials

Ceric sulphate was prepared from ceric ammonium nitrate BDH Analar as described in an earlier publication[5,7].

Chrome alum (BDH Analar) was used in preparing the solution for chromium ions. 1% solution was prepared directly by weight and about three drops of this solution were added in each experiment when required.

Concentrated sulphuric acid was the A.R. quality of International Chemical Ltd., Calcutta.

Formic acid and oxalic acid were of the BDH Analar quality.

Refluxing and titration were carried out as described earlier[5, 6].

Experimental

Solutions of oxalic and formic acids were prepared by weight and were standardised with ceric sulphate by procedures already described[7]. It was also confirmed by the well known methods of permanganate[9]. Different volumes of these solutions were mixed and the total volume was raised to 50 ml. 2 ml of this mixture solution were added to 5 ml of ceric sulphate and the mixture refluxed. The reaction was started in duplicate. In the first case the reaction was stopped after 5 min and the remaining excess of ceric sulphate was determined as usual[6]. The Table 1 shows the results obtained; the calculations have been made on the basis of the quantitative equation (1).

Table 1

Mixture No.	Volume of the acid solution mixed and made up to 50 ml		Vols. of $Ce(SO_4)_2$ solution used up	Volumes of $Ce(SO_4)_2$ solution required for the above oxidation
	Oxalic acid ml	Formic acid ml	ml	ml
1.	25.00	20.00	1.569	1.569
2.	20.00	20.00	1.355	1.256
3.	5.00	25.00	0.314	0.314
4.	25.00	5.00	1.569	1.569
5.	5.00	35.00	0.314	0.314
6.	35.00	5.00	2.196	2.198
7.	10.00	30.00	0.627	0.628
8.	30.00	10.00	1.982	1.884
9.	45.00	3.00	2.822	2.826
10.	3.00	45.00	0.188	0.184

In the second set of experiments concentrated sulphuric acid and chromium sulphate were added from the very beginning and the mixture refluxed. The results obtained are tabulated in Table 2 and have been calculated on the basis of the equations (2).

The volumes of ceric sulphate solution consumed as shown by the first titration is equivalent to the amount of oxalic acid present. The difference in the amount of ceric sulphate as shown by the difference in the two titre values is equivalent to the amount of formic acid. The agreement between the known and the calculated values of the reducing acids is fairly satisfactory as is shown in the Table 3.

Table 2

Mixture No.	Conc. H_2SO_4	Refluxing time	$Ce(SO_4)_2$-solution consumed (total)	$Ce(SO_4)_2$-solution used by oxalic acid only	$Ce(SO_4)_2$-solution used by formic acid only
	ml	min	ml	ml	ml
1.	7	75	3.348	1.569	1.779
2.	7	75	3.134	1.355	1.779
3.	7	75	2.538	0.314	2.224
4.	7	75	2.014	1.569	0.445
5.	15	50	3.428	0.314	3.114
6.	15	50	2.641	2.196	0.445
7.	7	50	3.296	0.627	2.669
8.	7	70	2.872	1.982	0.890
9.	7	70	3.090	2.822	0.268
10.	12	75	4.191	0.188	4.003

Table 3

Mixture No.	Oxalic acid		Formic acid	
	found ml	present ml	found ml	present ml
1.	25.00	25.00	19.99	20.00
2.	21.15	20.00	19.99	20.00
3.	5.00	5.00	25.00	25.00
4.	25.00	25.00	5.00	5.00
5.	5.00	5.00	35.00	35.00
6.	34.98	35.00	5.00	5.00
7.	9.98	10.00	30.00	30.00
8.	30.14	30.00	10.00	10.00
9.	44.97	45.00	3.01	3.00
10.	2.99	3.00	44.90	45.00

Summary

Oxalic acid is oxidised to carbon dioxide and water with sulphatocerate in dilute sulphuric acid medium. Formic acid is not affected by ceric sulphate under the above conditions. Both oxalic and formic acids are quantitatively oxidised to carbon dioxide and water by the cerate-chromate reagent. Based on this principle a method has been suggested for the estimation of a mixture of oxalic and formic acids.

Acknowledgment. My sincere thanks are due to Dr. R. C. Mehrotra, Reader in Chemistry, Lucknow University for his valuable guidance throughout the progress of this work.

References

[1] Benrath, A., and K. Ruland: Z. anorg. allg. Chem. **114**, 267 (1920). — [2] Furman, N. H.: J. Amer. chem. Soc. **50**, 755 (1928). — [3] Rao, G. Gopala, and G. Aravamudan: Z. analyt. Chem. **145**, 426 (1955). — [4] Sharma, N. N.: Anal. chim. Acta

(Amsterdam) **14**, 423 (1956); cf. Z. analyt. Chem. **155**, 299 (1957). — [5] Sharma, N. N.: Z. analyt. Chem. **154**, 340 (1957). — [6] Sharma, N. N., and R. C. Mehrotra: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **11**, 417 (1954); cf. Z. analyt. Chem. **147**, 201 (1955). — [7] Sharma, N. N., and R. C. Mehrotra: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **13**, 419 (1955); cf. Z. analyt. Chem. **152**, 379 (1956). — [8] Smith, G. F.: Cerate Oxidimetry, G. F. Smith Chemical Co., Columbus. — [9] Stamm, H.: Angew. Chem. **47**, 791 (1934). — [10] Willard, H. H., and Ph. Young: J. Amer. chem. Soc. **50**, 1322 (1928); cf. Z. analyt. Chem. **79**, 360 (1930). — [11] Willard, H. H., and Ph. Young: J. Amer. chem. Soc. **52**, 132 (1930); cf. Z. analyt. Chem. **83**, 204 (1931). — [12] Young, Ph.: Analyt. Chemistry **24**, 152 (1952); cf. Z. analyt. Chem. **141**, 54 (1954).

N. N. Sharma, Department of Chemistry, Meerut College, Meerut (India)

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

II. Analyse anorganischer Stoffe

Erdalkalien. F. Spindler und E. F. Wolf[1] beschreiben die Probenvorbereitung zur flammenphotometrischen Calciumbestimmung im Bereich von 0,125 bis 0,5 mg Ca/ml mit einem Lange-Photometer. Den störenden Einfluß der Eisen-, Aluminium- und besonders der Phosphationen schließen die Verff. durch eine Fällung als Zirkoniumphosphat bzw. als Eisen- und Aluminiumhydroxyd bei einem pH-Wert von ungefähr 4 aus. — *Arbeitsvorschrift.* 5 g feingemahlene Probe werden zusammen mit 10 ml Glycerin-Alkohollösung bei langsamer Temperatursteigerung auf 550° C verascht. Nach dem Abkühlen wird die Asche in 10 ml Salzsäure gelöst und 10 min auf dem Wasserbad erwärmt, filtriert, auf 100 ml aufgefüllt und 12 Std stehen gelassen, um etwa vorhandene Pyro- und Metaphosphate in Orthophosphate rückzubilden. Dann gibt man zu 25 ml der Aschelösung einige Tropfen 0,1%ige Bromkresolgrünlösung, erhitzt, läßt 5 ml einer Zirkoniumlösung (0,85 g Zirkoniumoxychlorid in 100 ml dest. Wasser) unter Umschwenken langsam zufließen und neutralisiert schließlich die Aschelösung mit verd. Ammoniak bis zum Umschlag. Nach dem Abkühlen wird auf 100 ml aufgefüllt; von der überstehenden klaren Lösung kann die zur Flammenphotometrie notwendige Menge abpipettiert werden. Die Verff. weisen daraufhin, daß Störungen durch Natrium-, Kalium- und Magnesiumionen bis zu Gehalten der vierfachen Calciumkonzentration nicht beobachtet werden. Die Meßwerte sind in Tabellen zusammengefaßt und lassen eine gute Übereinstimmung mit solchen erkennen, die nach einem gravimetrischen Trennungsgang flammenphotometrisch ermittelt worden sind. F. Rosendahl

In Fortsetzung einer früheren Arbeit[2] verwendet L. Jankovits[3] zur *Bestimmung kleiner Calciummengen* den *Hemiäther der Jodanilsäure* als Reagens. Der aus Bromanil über Jodanil hergestellte jodanilsaure Hemiäther bildet mit Calcium-

[1] Landwirtsch. Forsch. **9**, 179–184 (1956). Landessaatzuchtanstalt Weihenstephan/Freising.

[2] Jankovits, L., und L. Erdey: Acta chim. Acad. Sci. hung. **7**, 155 (1955); vgl. diese Z. **153**, 124 (1956).

[3] Acta chim. Acad. Sci. hung. **10**, 99–110 (1956). Techn. Univ. Budapest.

ionen einen dunklen Niederschlag, wodurch die Farbtiefe des Reagenses der Calciummenge entsprechend abnimmt. Zum vollständigen Ausscheiden des Niederschlages genügen 4 Std; die permanganatähnliche Farbe der Lösung ist auch nach 30 Tagen unverändert. — *Ausführung.* In einem 50 ml-Meßkolben wird die 0,4 bis 2 mg Calcium enthaltende, neutrale Lösung auf etwa 30 ml verdünnt, mit 10 ml 0,3%iger Reagenslösung versetzt und durchgeschüttelt. Nach 4 Std wird die Lösung mit Wasser aufgefüllt, durch ein trockenes, aschefreies Filter gegossen, das klare Filtrat wird bei 530 mμ gemessen. Der Ca-Gehalt ergibt sich aus der unter den gleichen Bedingungen hergestellten Eichkurve. Ag, Ba, Bi, Co, Cu, Fe, Hg, Mg, Ni, Pb, Sn, Sr stören, da diese durch das Reagens ebenfalls gefällt werden. J. Plank

M. Ishibashi und T. Tsutsui[1] erhielten bei der Verwendung von wäßrigen Äthanol-Salzsäure- und Äthanol-Salpetersäure-Mischungen gute Ergebnisse bei der papierchromatographischen *Trennung von Calcium, Strontium und Barium.* Wurden verschiedene Elutionslösungen mit konstantem Gehalt an Äthanol und zunehmender Konzentration an Säure verwendet, so nahmen die R_f-Werte der Elemente allmählich ab, während bei konstantem Säuregehalt mit wachsender Alkoholkonzentration eine schnelle Abnahme der R_f-Werte eintrat. Mit zunehmendem Wassergehalt nahmen wohl die R_f-Werte zu, aber die Calcium-Strontiumtrennung wurde schwieriger. Mit einer Lösung, die sich aus 60—80 Teilen Äthanol, 10 Teilen 6 n Salzsäure oder 6 n Salpetersäure und 30—10 Teilen Wasser zusammensetzte, wurden besonders gute Trenneffekte erzielt, wobei die R_f-Werte unabhängig von der Anwendung von Chloriden oder Nitraten waren. Wird neben Äthanol und Wasser Salzsäure zur Elution verwendet, gelingt es, Strontium und Barium in einer Lösung zu bestimmen, die 500mal soviel Calcium enthält. Zahlreiche Chromatogramme und eine Tabelle belegen die geschilderten Ergebnisse. D. Jentzsch

Bei der maßanalytischen Bestimmung von Zink mit Kaliumhexacyanoferrat(II) benützen J. Bognár und L. Nagy[2] *Xylenblau VS* (Bayer) und *Patentblau V* als reversible Redoxadsorptionsindicatoren. In Gegenwart von wenig Kaliumhexacyanoferrat(III) ist während der Titration mit Kaliumhexacyanoferrat(II) bei Zinküberschuß die Lösung rot, bei Überschuß der Maßlösung blaugrün, wobei die Farbänderung vom am Niederschlag adsorbierten Indicator stammt. Die mit dem Indicator versetzte Lösung ist anfänglich blau, geht nach Ausscheiden einer geringen Menge Niederschlags in rot über. Die Maßlösung muß so langsam zugegeben werden, daß für die Umwandlung des durchscheinend schleimigen Niederschlags in die undurchsichtige pulverige Form genügend Zeit bleibt. Vor dem Endpunkt (schwach rosafarbige Lösung) wird aufgekocht und die Titration durch tropfenweises Zusetzen der Maßlösung beendet. Bei der indirekten Methode werden von der Maßlösung 0,2—0,3 ml Überschuß verwendet, die Lösung auf 50—60° C erwärmt und der Überschuß mit eingestellter Zinksulfatlösung gemessen. Die Indicatormenge beeinträchtigt den Endpunkt, nicht aber die Menge an zugesetztem Kaliumhexacyanoferrat(III). Am besten gelingt die Bestimmung in neutralen Lösungen, der Endpunkt ist aber bei der direkten Methode bis p_H 3, bei der indirekten bis p_H 2 gut sichtbar. In Gegenwart von Aluminium und Schwermetallen ist die Bestimmung nicht ausführbar. Sind Ammoniumsalze in der Lösung, so ist nur die indirekte Methode brauchbar. Zinkchlorid kann leichter und besser titriert werden als Zinksulfat, in Zinknitrat und -acetatlösungen zeigen die Indicatoren den Endpunkt nicht an. J. Plank

[1] Jap. Analyst **5**, 437—439 (1956) [Japanisch]. (Nach engl. Zusammenfassung refer.) Univ. Kyoto (Japan).

[2] Magyar Kémiai Folyóirat **62**, 217—220 (1956) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zusfass.) Techn. Univ. Miskolc (Ungarn).

Antimon. V. A. Nazarenko und N. V. Lebedeva[1] stellen die genaueren Bedingungen für die schon früher[2] empfohlene *colorimetrische Bestimmung von Antimon mit Phenylfluoron* fest. Die Komplexverbindung enthält Sb und Phenylfluoron im Molverhältnis 1 : 1. Für die Verbindung wird eine wahrscheinliche Formel vorgeschlagen. Das Absorptionsmaximum der roten Komplexverbindung liegt bei 530 mμ, die Lösung der Verbindung kann durch Gelatinezusatz stabilisiert werden und befolgt dann das Lambert-Beersche Gesetz; eine Ausscheidung (an den Gefäßwänden) beginnt erst am zweiten Tage nach der Herstellung. Die Farbintensität beginnt stark abzublassen, sobald der Säuregrad zu hoch ist (bei H_2SO_4 ab 2,5 n, bei HCl ab 0,75 n). Die Gleichgewichtskonstante pK beträgt (im Mittel) 6,88, der molare Extinktionskoeffizient ist 34160, seine Höhe kennzeichnet die hohe Empfindlichkeit des Verfahrens: man kann Sb im Konzentrationsbereich 0,05 bis 6 μg/ml bestimmen. — *Ausführung.* Die zu prüfende Lösung wird mit 10 ml 2,5 n Schwefelsäure und 1 ml 1%iger Gelatinelösung, anschließend mit 2,5 ml einer 0,03%igen Phenylfluoronlösung versetzt, zur Marke (25 ml) aufgefüllt. Nach dem Mischen und 15—30 minutigem Stehen wird unter Hinzuziehung von Blindprobe und Vergleichlösungen bei 530 mμ photocolorimetriert. — Auch *9-(p-Nitrophenyl)-2,3,7-trioxy-6-fluoron* gibt mit Antimon(III) eine zum empfindlichen Nachweis geeignete Komplexverbindung mit dem Absorptionsmaximum bei 570 mμ; das Reagens ist jedoch weniger leicht erhältlich[2]. A. v. Wilpert

Vanadium. F. H. Pollard, G. Nickless und A. J. Banister[3] geben Vorschriften zur Bestimmung von Vanadium in Anwesenheit eines Dichromatüberschusses. Hierzu wird das Vanadium(V) von Chrom(VI) mit Hilfe absteigender Papierchromatographie getrennt und dann mit Natriumwolframat oder mit Formaldoxim colorimetrisch bestimmt. Chromatographiert wird auf Whatman 3 MM-Papier mit dem Lösungsmittelgemisch Wasser—konz. Salzsäure—Diäthyläther—Methanol (15 : 4 : 50 : 30). Nach dem Trocknen kann das Chromatogramm besprüht werden mit Tanninsäure (0,5 g Tanninsäure und 1 g Natriumacetat in 10 ml warmem 60%igem Spiritus aufgelöst) — ergibt mit Vanadium dunkelblaue Flecke — oder mit Natrium-2-nitroso-1-naphthol-4-sulfonatlösung [0,05 g Reagens in 100 ml (1 : 1) verd. Äthanol gelöst] — gibt mit Dichromat nach Entwicklung im Ammoniakdampf eine starke rosabraune Färbung. Die R_f-Werte betragen für Vanadium und für die geringen, durch das Papier zu Chrom(III) reduzierten Dichromatmengen 0,5, für Dichromat 0,8. — Verff. weisen darauf hin, daß sich das zur Sichtbarmachung von Dichromat verwendete Reagens ebenfalls für *Kupfer(II)* (orangerosa), *Gold(III)* (orangebraun), *Uran(IV)* (violett), *Eisen(II, III)* (bei geringen Konzentrationen grün, andernfalls braun), *Kobalt(II)* (rosenrot), *Nickel(II)* (gelb), *Palladium(II)* (rotviolett), *Platin(IV)* (braun) und *Chrom(III, VI)* (rosabraun, Intensität im Laufe einiger Tage zunehmend) als Sprühreagens eignet. — Für die *quantitative Bestimmung von Vanadium* werden verwendet a) breite Papierchromatogramme (20 × 45 cm), auf deren Startlinie (10 cm unterhalb des oberen Randes) die Tropfen der zu analysierenden Lösung in einer Reihe von 12 × 1,5 cm aufgetragen werden, und b) Zwillingspapierstreifen (aus einem Papierstreifen von 35 × 20,5 cm wird von unten nach oben ein 29 cm langes, 0,5 cm breites Stück herausgeschnitten). In beiden Fällen können entweder Randstreifen (a) oder einer der Zwillingsstreifen (b) zur Lokalisierung des Vanadiums verwendet werden. Für das quantitative Arbeiten wird vor allem die unter b) beschriebene Methode heran-

[1] Ž. anal. Chim. **11**, 560—565 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zusammenfassung.)

[2] Nazarenko, V. A., und N. V. Lebedeva: Ž. anal. Chim. **10**, 289 (1955); vgl. diese Z. **151**, 435 (1957).

[3] Analyst **81**, 577—581 (1956). Univ. Bristol (England).

gezogen. — Die aus dem Chromatogramm geschnittenen, das Vanadium enthaltenden Teile werden im Platintiegel verascht, der Rückstand wird mit überschüssigem Natriumcarbonat geschmolzen, die Schmelze mit Wasser extrahiert. Der wäßrige Extrakt (4—5 ml) wird tropfenweise mit 1 m Schwefelsäure bis zur vorübergehenden Orangefärbung von Methylorange neutralisiert, auf p_H 4 mit 5 ml Acetatlösung (0,036 m Natriumacetat und 0,164 m Essigsäure in wäßriger Lösung) gepuffert und nach Zugabe von 0,5 ml 8-Oxychinolinlösung (2%ige Lösung in 10 vol%iger wäßriger Essigsäure) sowie 3 ml Chloroform im Scheidetrichter 1 min kräftig geschüttelt. Nach Abtrennung der vanadinhaltigen Chloroformschicht (rotbraun) wird die Extraktion wiederholt. Die vereinigten Extrakte werden im Platintiegel vom Chloroform befreit, mit 0,05 g wasserfreiem Natriumcarbonat geschmolzen und nach dem Erkalten mit Wasser extrahiert. Nun werden 0,05 g Ammoniumpersulfat zugefügt und die Lösung zur Trockne gedampft. Durch nochmaliges Eindampfen mit 5 ml konzentrierter Salzsäure wird der Überschuß an Persulfat zerstört. Die aufgenommene Lösung eignet sich zur colorimetrischen Bestimmung. *a) Bestimmung mit Natriumwolframat*: Zu einem entsprechenden Volumen vanadiumhaltiger Lösung gibt man 2,0 ml 0,5 m Salpetersäure, 2,0 ml verd. Phosphorsäure (1 Vol. Säure [D 1,75] + 2 Vol. Wasser), 0,5 ml 0,05 m Natriumwolframatlösung, füllt mit Wasser auf 10 ml auf und photometriert bei 410 mμ. Das Beersche Gesetz ist im Bereich von 0—10 μg Vanadium/ml erfüllt. Nach den mitgeteilten Analysen können 50 μg V neben der bis zu 200fachen Menge Cr mit einer Genauigkeit von etwa 2% wiedergefunden werden. — *b) Bestimmung mit Formaldoxim*: Ein entsprechendes Volumen vanadiumhaltiger Lösung wird nach Zugabe von 5 ml 0,2 m Salzsäure mit 0,05 g Natriummetabisulfit zum Vanadylion reduziert und dann zur Entfernung überschüssigen Schwefeldioxyds eingeengt. Die abgekühlte, in einem 10 ml-Meßkolben übergeführte Lösung wird mit 2 ml 2,5%iger Formaldoximhydrochloridlösung und mit 1 ml Ammoniak (0,880) versetzt und auf 10 ml aufgefüllt. Nach 30 min wird die Durchlässigkeit der gelben Lösung bei 410 mμ gemessen. Das Beersche Gesetz ist von 0—5 μg Vanadium/ml gültig. Die Empfindlichkeit dieser Methode ist etwa 5mal so groß als die der Methode a). Die Analysenfehler sind bei beiden Methoden ungefähr gleich.

D. Jentzsch

In einer vorläufigen Mitteilung gibt I. Pais[1] die Grundlagen einer *mikrojodometrischen Vanadiumbestimmung*, wonach eine mit Phosphorsäure auf den Säuregrad von 2 n eingestellte Vanadium(V)-lösung mit Mannit und Kaliumjodid versetzt und das freigesetzte Jod mit 0,01 n Natriumthiosulfatlösung gemessen wird. 10—50 μg Vanadium können mit einem Fehler von 1,5% bestimmt werden.

J. Plank

Sulfat. A. D. Miller[2] beschreibt ein *Verfahren zur direkten potentiometrischen Sulfatbestimmung*, wobei der Äquivalenzpunkt mit Hilfe einer $Mo/MoO_3/BaSO_4$-Elektrode festgestellt wird. Die Elektrode wird hergestellt durch starkes Erhitzen eines Mo-Drahtes (1 mm ⌀, mit 3—4 Windungen am Ende) in einem Teclubrenner; dann taucht man den glühenden Draht in geschmolzenen Schwefel, glüht wiederholt (3—4mal) und taucht ihn anschließend 20mal glühend und 2mal abgekühlt in eine gesättigte $BaCl_2$- oder $Ba(OH)_2$-Lösung. Zuletzt wird die Elektrode noch 10—15 min unter dauerndem Drehen geglüht. Die Elektrode wird hierauf einige min in 0,2 n Schwefelsäure, anschließend einige Stunden in frische Schwefelsäure eingetaucht und endlich in 10^{-3}n Na_2SO_4-Lösung aufbewahrt (unbrauchbar gewordene

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **62**, 252 (1956) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.fass.). Univ. Budapest.

[2] Ž. anal. Chim. **11**, 615—620 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Technol. Lensowiet-Inst. Leningrad.

Elektroden werden durch 5—6 Eintauch -Glüh-Serien wieder regeneriert). — Die Sulfattitration kann sodann mit oder ohne Kompensation (mit bimetallischem Elektrodenpaar; Vergleichselektrode Wolfram) erfolgen, und zwar sowohl in neutraler als auch in schwachsaurer (0,025 n salzsaurer) Lösung. Der Potentialsprung erfolgt in beiden Fällen eindeutig am Äquivalenzpunkt. In neutraler Lösung ist er bedeutend stärker, jedoch nicht so scharf, das Potential fällt; in schwachsaurer Lösung steigt es bedeutend weniger stark, jedoch schärfer an. Der Äquivalenzpunkt wird bei Verwendung von Essigsäure bis 0,5 n nicht verschoben, auch die Konzentration des Sulfations verschiebt ihn innerhalb 0,008 bis 0,1 n nicht. Bei Verwendung von Salzsäure wird die Konz. 0,05 n empfohlen (höhere Konz. senkt die Sprunghöhe zu stark). Der Bestimmungsfehler beträgt $\pm$ 1% SO_4^{2-}. — Es wird schließlich eine Deutung der Elektrodenwirkung gegeben. A. v. Wilpert

Für die Bestimmung von Selenspuren empfiehlt K. L. Cheng[1] ein spektrophotometrisches Verfahren auf Grund der bereits von J. Hoste und J. Gillis[2] verwendeten Farbreaktion mit *3,3'-Diaminobenzidin*, die der Verf. nochmals eingehend untersucht hat. Man versetzt bei p_H 2—3 mit dem Reagens, extrahiert quantitativ bei p_H 5, nachdem man die mehrwertigen Metalle mit Äthylendiamintetraacetat maskiert hat, und photometriert bei 420 mμ. Eisen, Kupfer, Titan, Molybdat, Nickel, Kobalt, Tellur, Chrom(III), Arsen und bis zu 5 mg Vanadium(V) stören nicht. Stark reduzierende und stark oxydierende Reagentien müssen abwesend sein. Es lassen sich noch 0,05 mg Se/Liter bestimmen. - *Ausführung.* Man bringt einen aliquoten Teil der Probelösung, der nicht mehr als 50 μg Selen enthalten soll, in ein 100 ml-Becherglas, fügt 2 ml 2,5 m Ameisensäure und 50 ml Wasser zu, bringt den p_H-Wert auf 2—3, versetzt mit 2 ml 0,5%iger Diaminobenzidinlösung und läßt 30—50 min stehen. Mit 7 m Ammoniak bringt man den p_H-Wert auf 6—7, extrahiert in einem 125 ml Scheidetrichter mit genau 10 ml Toluol durch 30 sec langes Schütteln und zentrifugiert die Toluolschicht einige Minuten. Nach der Schichtentrennung mißt man die Absorption bei 420 mμ. Die Eichkurve ist linear in den Konzentrationsbereichen 5—25 μg Selen je 10 ml Toluol (420 oder 340 mμ), 1—10 μg Selen je 6 ml Toluol (in 5 cm-Zellen) und 10—100 μg Selen je 10 ml Toluol (420 mμ). — Die Originalarbeit enthält auch eine Vorschrift zur *Bestimmung von Selenspuren in reinem Arsen oder Arsentrioxyd*, die zur Herstellung von Halbleitern dienen. K. Brodersen

Chrom. R. Vanossi[3] gibt im Zusammenhang mit früheren Untersuchungen[4] genau ausgearbeitete Vorschriften für den Chromnachweis mit Diphenylcarbazid unter Berücksichtigung der verschiedenen Störungsmöglichkeiten. — *Methode.* Die Probe wird einer Natriumperoxydschmelze unterworfen und nach dem Auskochen mit Wasser wird der Rückstand abzentrifugiert. Die Lösung wird mit einigen Tropfen Brom (30—50 mg) versetzt, erhitzt, auf 1—3 ml eingeengt und in der Kälte nach dem Neutralisieren des Alkalis mit Salzsäure auf eine 2 m Säurekonzentration eingestellt. Bei 10—12° C schüttelt man mit dem 2fachen Volumen an Äthylacetat, zieht das organische Lösungsmittel ab und wäscht mit $^1/_5$ seines Volumens an 1—1,5 m Salzsäure aus. Man engt danach bis zur Trockne ein, versetzt den Rückstand mit einigen Tropfen Salpetersäure, dampft wieder ein und wiederholt diese Operation nochmals mit einigen Tropfen HNO_3 und $HClO_4$. Der Rückstand wird mit 1,5—2 ml Wasser, 1—2 Tropfen Brom und 4 m NaOH-Lösung bis

[1] Analyt. Chemistry **28**, 1738—1742 (1956). Westinghouse Electric. Co., East Pittsburgh, Pa. (USA).

[2] Anal. chim. Acta **12**, 158 (1955); vgl. diese Z. **148**, 230 (1955/56).

[3] An. Soc. ci. argent. **160**, 37—52 (1955).

[4] Vanossi, R.: vgl. diese Z. **149**, 211 (1956); **154**, 44 (1957).

zur Neutralisation des Broms und mit einem Tropfen im Überschuß versetzt. Man erhitzt 15—30 sec, gibt in der Kälte bis zum Auftreten von freiem Brom 4 m $HClO_4$ zu, erhitzt zum Entfernen von Brom und achtet darauf, daß nach der totalen Entfernung des Broms die Säurekonzentration nicht über 0,8 m steigt. Als Vorprobe, die evtl. fortgelassen werden kann, erfolgt nun die Identifizierung des Chroms als Perchromsäure: Zu der auf 10—12° C abgekühlten Lösung gibt man etwa 0,3 bis 0,4 ml Äthylacetat zu, fügt dann 2 oder 3 Tropfen 3%iges Wasserstoffperoxyd hinzu und schüttelt. Durch die Blaufärbung im Lösungsmittel kann ein Chromgehalt von 2—7 μg Cr in der ursprünglichen Probe nachgewiesen werden. Zur empfindlichen Identifizierung gibt man mehr Äthylacetat hinzu, schüttelt und trennt diese Phase ab. Man fügt sodann weitere 1—2 ml 0,5 m Perchlorsäure und 0,2 ml 0,5%ige alkoholische Diphenylcarbazidlösung hinzu. Innerhalb einiger Minuten zeigt eine rote Färbung 0,2—0,6 μg Cr (als unterste Grenze) an. Das Verfahren ist in Anwesenheit von 1 g irgendeines anderen Elementes anwendbar. Irmgard Pfitzer

Molybdän. Nach S. I. Sinjakova und M. I. Glinkina[1] tritt in Molybdänlösungen, die Perchlorsäure (1 m) oder $NaClO_4$ (1 m) und Schwefelsäure (0,75 m) enthalten, ein polarographischer katalytischer Strom mit einer Stufe von dem Halbstufenpotential — 0,32 V (gemessen gegen die gesätt. Kalomelelektrode) auf. Der Grenzstrom ist unabhängig vom Druck der Quecksilbersäule sowie von der Schwefelsäurekonzentration, er steigt aber mit zunehmender $HClO_4$-($NaClO_4$)-Konzentration bis zu einem Höchstwert linear an. Zur Erklärung wird angenommen, daß das Molybdän an der Quecksilberelektrode zu Mo^{IV} reduziert wird, das durch die Perchlorsäure mit einer von deren Konzentration abhängigen Geschwindigkeit zu Mo^{V} rückoxydiert wird. Innerhalb des Konzentrationsbereiches von etwa 10^{-6} bis 10^{-5} Molen Mo/l besteht lineare Abhängigkeit zwischen der Stromstärke und der Molybdänkonzentration. Man kann das Molybdän bis zu einem Gehalt von 10^{-6} Mol/l herab mit $\pm$ 10% Fehler bestimmen. In einer Einwaage von 5 g ist noch ein Gehalt von $2 \cdot 10^{-6}$% Mo zu erfassen. Um Störungen der Bestimmung (z. B. durch größere Mengen Cu, Bi, Fe usw.) zu vermeiden, trennt man das Molybdän zunächst in Form seiner Komplexverbindung mit α-Benzoinoxim von den Störmetallen ab. — *Molybdänbestimmung in Gesteinen.* Man löst 1—2 g des Gesteins (Granit, Trondiemit, Skarn) in 40 ml Königswasser, dampft auf 5 ml ein, setzt 2 ml konz. Schwefelsäure hinzu, dampft weiter ein (15—20 min nach dem Auftreten der dichten SO_3-Dämpfe), gibt 20 ml heißes Wasser hinzu, löst durch Kochen und filtriert, wäscht 3—4mal mit 0,5%iger H_2SO_4-Lösung, dampft Filtrat und Waschwässer auf 10 ml ein und neutralisiert mit fester Soda [eine bleibende Trübung wird in 1—2 Tropfen H_2SO_4 (1 : 1) aufgelöst]. Die Lösung wird in einen 50 ml-Scheidetrichter gefüllt, man setzt Schwefelsäure bis zur Konzentration von 1—2 Vol-% hinzu sowie 2 ml einer 2%igen alkoholischen Lösung von α-Benzoinoxim, schüttelt, fügt noch 5 ml Chloroform hinzu, schüttelt wieder etwa 1 min, läßt nach der Entmischung die $CHCl_3$-Schicht abfließen und wiederholt die Extraktion noch zweimal mit je 5 ml $CHCl_3$. Man dampft das Chloroform auf warmer Heizplatte ab und verglüht den Rückstand auf dem Sandbad. Der Glührückstand wird mit 2 ml konz. H_2SO_4 + 5 ml konz. HNO_3 + 5 bis 10 Tropfen $HClO_4$ bis zum Verschwinden der Rauchbildung erhitzt. Man gießt zum heißen Rückstand 5 ml Grundlösung (1 m $NaClO_4$ + 0,75 m H_2SO_4), leitet 5 min einen Wasserstoffstrom hindurch und nimmt das Polarogramm von 0 bis —0,6 V auf. Der Gehalt an Mo wird aus einer Eichkurve ermittelt. Die Analysenergebnisse decken sich mit spektralanalytischen Mo-Bestimmungen, die Reproduzierbarkeit ist durchaus befriedigend, der relative Fehler übersteigt nicht 5—6% bei einem Mo-Gehalt von 10^{-4}%. A. v. Wilpert

[1] Ž. anal. Chim. **11**, 544—552 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zusammenfassung.) Vernadsky Inst., Akad. Wiss. Moskau.

IV. Spezielle analytische Methoden

2. Analyse von Materialien der Industrie, des Handels und der Landwirtschaft

Wasseruntersuchung. K. Sugawara, T. Koyama und N. Kawasaki[1] nutzen zur *flammenphotometrischen Natrium- und Kaliumbestimmung in Wasser* die intensitätssteigernde Wirkung des Zusatzes von organischen Lösungsmitteln aus und können damit die Nachweisempfindlichkeit für die beiden Elemente um den Faktor 10 verbessern. Nach sehr eingehenden Untersuchungen, in denen die Wirksamkeit von Aceton, Äthylalkohol, Propylalkohol, Methyläthylketon, Butylalkohol, Formaldehyd, Essigsäure, Isooctylphenol und Laurylaminhydrochlorid in verschiedenen Konzentrationen und Kombinationen untereinander überprüft worden ist, finden die Verff., daß ein Zusatz von 5% Aceton, 5% Butylalkohol und 0,25% Laurylaminhydrochlorid optimale Ergebnisse zeigt. Es sind Eichkurvenscharen für Natrium (0,05—1,2 ppm) und Kalium (0,1—1,0 ppm), die für verschiedene Konzentrationsverhältnisse Natrium/Kalium als Parameter gelten, in Diagrammen abgebildet. Für den Fall von Regenwasser geben die Verff. durchschnittliche Abweichungen vom wahren Wert von 4,7% für Natrium und 3,6% für Kalium an. Die Gegenwart von 20 ppm Calcium bzw. 25 ppm Magnesium verfälscht die Natriumwerte um 2% und die Kaliummeßwerte um 1%. Weitere genauere Angaben über Versuchsbedingungen werden nicht gemacht.

Bei der flammenphotometrischen Bestimmung von Calcium und Strontium in Wasser erreichen K. Sugawara, T. Koyama und N. Kawasaki[2] eine Intensitätssteigerung durch die Zugabe von Weinsäure und nutzen außerdem die Anhebung der Strontiumintensität durch Calcium aus. Versuche haben ergeben, daß Weinsäure bessere Ergebnisse zeitigt als Ameisensäure und Propionsäure. Für den Fall von Regenwasser geben sie folgende *Arbeitsvorschrift* an. Für die Calciumbestimmung werden 100—500 ml und für die Strontiumbestimmung 1,2—2 l Regenwasser gefiltert und auf ein Volumen von 100 ml eingedampft. Zu einer abgemessenen Menge dieses Wassers werden 2 ml Salzsäure (1 : 1), 20 ml einer gesättigten Lösung von Ammoniumoxalat, 10 g Harnstoff und 2 Tropfen Methylrotlösung langsam zugegeben. Die Lösung wird bis zum Farbumschlag erwärmt. Nach dem Abkühlen wird der Niederschlag von Calcium- und Strontiumoxalat abfiltriert, mehrmals mit 10 ml einer ammoniakalischen Ammoniumoxalatlösung ausgewaschen und dann mit dest. Wasser in ein Becherglas übergeführt. Nach Zusatz von 2 ml Salzsäure (1 : 1) wird der Inhalt des Becherglases mit dem Filter bis zur völligen Auflösung des Niederschlages erwärmt. Die Lösung wird abermals filtriert. Zum Filtrat gibt man 2,5 ml einer 20%igen Weinsäurelösung, und füllt auf 50 ml auf. Abweichend hiervon wird bei der Strontiumbestimmung anfangs außer den übrigen Reagentien eine geeignete Menge Calciumchloridlösung zugesetzt. Zuerst wird dann bei 5600 Å die Calciumintensität gemessen und danach aus der Parallellösung (gegebenenfalls nach Ca-Zusatz) bei 4607 Å die Strontiumintensität, wobei der Strontiumgehalt der zum gegebenen Calciumgehalt gehörenden Eichkurve entnommen werden muß. Der Strontiumkonzentrationsbereich erstreckt sich von 2 bis 10 ppm. Die Genauigkeit ist zufriedenstellend. Die möglichen Störungen durch Magnesium werden umgangen durch die vorangehende Fällung von Calcium und Strontium in Gegenwart von Harnstoff. F. Rosendahl

Die Bestimmung kleinster Mengen Arsen in Naturwässern, sowie in Silicaten und biologischem Material wird von K. Sugawara, M. Tanaka und S. Kana-

[1] Bull. chem. Soc. Japan **29**, 679—683 (1956). Univ. Nagoya (Japan).
[2] Bull. chem. Soc. Japan **29**, 683—685 (1956).

MORI[1] spektrophotometrisch durchgeführt. Durch gemeinsame Fällung mit Eisen(III)-hydroxyd wird das in der Probe vorhandene Arsen niedergeschlagen, der Niederschlag in einem Gemisch aus Schwefelsäure und Salpetersäure aufgeschlossen, das Arsen aus schwefelsaurer Lösung durch geeignete Extraktionsverfahren isoliert und anschließend als Molybdänblau bestimmt. Phosphat und Silicat stören nicht, dagegen stören viele andere Elemente. Selen fällt bei der Behandlung der Probe mit KJ zum Teil aus und wird abfiltriert, der Selenrest wird mit CCl_4 ausgeschüttelt und so entfernt. — *Arbeitsweise.* Zu einer geeigneten Menge der Wasserprobe mit einem Arsengehalt von 1—5 μg gibt man je Liter 1 ml einer schwefelsauren $FeCl_3$-Lösung (4,84 g arsenfreies $FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$ werden in 25 ml Schwefelsäure gelöst und auf 100 ml verdünnt), erwärmt auf 70—80° C, neutralisiert mit Ammoniak (1:3) gegen Bromkresolpurpur als Indicator und fügt unter ständigem Rühren je Liter Lösung 1 ml Ammoniak (1:3) im Überschuß hinzu. Nach dem Abkühlen wird filtriert. (In der Originalarbeit ist eine automatische Filtriereinrichtung ausführlich beschrieben.) Der Niederschlag wird in einem geeigneten Aufschlußkolben[2], der mit einem Schornstein und einem Schirmschen[3] Kühler versehen ist, mit 2 ml frisch destillierter Salpetersäure und 5 ml Schwefelsäure behandelt. Zur vollständigen Mineralisation erhitzt man 1—3 Std unter wiederholter Zugabe von Salpetersäure, spült die Lösung anschließend in eine Quarzschale über und verdampft auf einem Wasserbad die überschüssige Salpetersäure. Der Rückstand wird mit 25 ml Wasser verdünnt, erwärmt (Wasserbad) und mit 2 ml 25%iger KJ-Lösung versetzt. Nach dem Erkalten wird zur Entfernung des ausgeschiedenen Jods tropfenweise 5%ige $Na_2S_2O_3$-Lösung zugegeben (ein Reagensüberschuß ist zu vermeiden). Zur Extraktion des Arsens schüttelt man die erhaltene Lösung in einem 100 ml-Scheidetrichter mit 5 ml 0,1%iger Kaliumxanthatlösung und 3 ml Tetrachlorkohlenstoff kräftig 2 min, läßt die organische Schicht in einen 25 ml-Scheidetrichter ab und wiederholt die Extraktion noch einmal in derselben Weise. Die vereinigten Extrakte werden nacheinander erst mit 1,2 ml Schwefelsäure (1:9), 2 ml Wasser und einem oder mehreren Millilitern bromhaltigem Tetrachlorkohlenstoff (1:25), danach allein mit 3 ml Wasser sorgfältig geschüttelt. Man wäscht den vereinigten Säure- und Wasserauszug zur Entfernung des restlichen Broms 2mal mit je 3 ml Tetrachlorkohlenstoff, spült mit 3 ml Wasser in einen 10 ml-Meßkolben über, fügt 0,4 ml 2%ige Ammoniummolybdatlösung und 0,4 ml 0,1%ige Hydrazinsulfatlösung hinzu, füllt mit Wasser zur Marke auf, erhitzt den Kolben 30 min in kochendem Wasser, kühlt ab und mißt die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung bei 840 mμ. Eine Blindwertbestimmung wird in der beschriebenen Weise durchgeführt. Um einen möglichst niedrigen Blindwert zu erhalten, wird die Verwendung von Porzellangefäßen empfohlen. Zum Aufstellen der Eichkurve wird eine Stammlösung angesetzt, die 1 mg As/ml enthält. (Man löst 0,132 g As_2O_3 in 2 ml 1 n Natronlauge, säuert mit Schwefelsäure leicht an und verdünnt auf 100 ml.) Je nach Bedarf wird die Stammlösung entsprechend weiter verdünnt. Sämtliche verwendeten Reagentien müssen arsenfrei sein. — Zur Bestimmung von Arsen in Silicaten oder biologischem Material werden die Proben vorher in üblicher Weise aufgeschlossen. Nach den mitgeteilten Analysenzahlen beträgt die Genauigkeit der Methode $\pm$ 5%. K. MACHNER

Zur Analyse kleinster Metall- und Legierungsproben verwenden C. L. BROWN und P. L. KIRK[4] eine sehr interessante neue Methode: Mit der in Abb. 1 gezeich-

[1] Bull. chem. Soc. Japan **29**, 670—673 (1956). Univ. Nagoya (Japan).

[2] TANAKA, M., and S. KANAMORI: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **14**, 263 (1956); vgl. diese Z. **154**, 158 (1957).

[3] SCHIRM, E.: Z. angew. Chem. **25**, 1225 (1912); vgl. diese Z. **52**, 311 (1913).

[4] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1593—1599. School of Criminology, Univ. Berkeley, Calif. (USA).

neten Vorrichtung wird zunächst von der in einer geeigneten Klemme als Anode befestigten Probe durch Andrücken auf einen Whatman-Papierstreifen (Nr. 11, 3,7 cm breit), der in eine Lösung von 8 g KCl, 2 g KBr und 1 ml konz. Salzsäure im Liter taucht und vollgesogen ist, bei Anliegen von 90—100 V entspr. 20—40 mA, eine Spur der Probe abgelöst und vom Streifen aufgenommen (0,5 bis 1 min Elektrolyse). Dieser „Fleck" wird ausgeschnitten, getrocknet und anschließend nach Auflegen auf einen neuen Streifen der Elektrophorese unterworfen. Als Pufferlösung wird dabei zweckmäßig eine Lösung von 5 ml Milchsäure im Liter, mit NaOH auf p_H 3 bis 4 eingestellt, verwendet. Bei Verwendung der gleichen Vorrichtung wird mit 350—400 V 0,5 bis 1 Std elektrolysiert. Zur Identifizierung der getrennten Flecken wird empfohlen: Bedämpfen des noch feuchten Streifens mit Ammoniak, dann Besprühen mit Kojisäure und Oxin in Äthylalkohol[1] und Trocknen, Prüfen im UV-Licht und visuell, Anfeuchten mit Dithizonlösung in Tetrachlorkohlenstoff und schließlich Besprühen mit Eriochromschwarz T in Äthylalkohol. Die Versuche erstrecken sich vor allem auf den Nachweis von Pb, Zn, Cu, Al, Fe, Hg, Mn, Mg, Cd, Bi, Sn, Ni, Cr und Sb. Die Methode ist zum Nachweis von Bruchteilen eines μg geeignet.

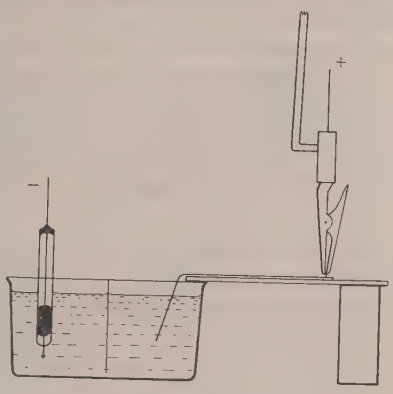

Abb. 1. Elektrolysiervorrichtung nach Brown u. Kirk

K. Cruse

Bestimmung des Kupfers in Aluminiumlegierungen. F. Oehlmann[2] führt die *Trennung des Aluminiums von Kupfer durch Ionenaustausch*[3] aus und bestimmt danach das Kupfer mittels der Methode von A. Jewsbury[4] bzw. A. E. Martin[5] mit Hilfe von Diäthyldithiocarbaminat. – *Vorschrift.* 0,5 g Legierung (Späne) werden unter Erwärmen in 7 ml verdünnter Salzsäure (5 Teile konz. Salzsäure + 2 Teile Wasser) gelöst. Ungelöst bleibende Anteile werden durch Zusatz einiger Tropfen von 3%igem Wasserstoffperoxyd unter gleichzeitigem Eindampfen auf 3—4 ml gelöst. Man füllt dann mit 8 n Salzsäure auf 25 ml auf. Diese Lösung läßt man durch eine mit Wofatit L 150 (Farbenfabrik Wolfen; Korngröße 0,3—0,8 mm) beschickte Säule von 10 cm Länge und 0,8 cm² Querschnitt mit einer Geschwindigkeit von 3—4 ml/min laufen und wäscht mit 30 ml 8 n Salzsäure nach. Die Säule wird zuvor mit 8 n Salzsäure aktiviert. Dann wird das Kupfer mit 60 ml 2 n Salzsäure eluiert, das Eluat wird in einem Meßkolben von 100 ml Inhalt aufgefangen und mit Wasser aufgefüllt. 5—25 ml dieser Lösung versetzt man mit 40 ml Citratlösung (s. u.) und 10 ml 0,15%iger Natriumdiäthyldithiocarbaminatlösung (0,75 g + einige Tropfen 10%ige Natronlauge + Wasser auf 500 ml), schüttelt 6mal mit je 3 ml Tetrachlor-

[1] Pollard, F. H., J. F. W. McOmie und I. I. M. Elbeih, J. chem. Soc. (London) **1951**, 466, 470; vgl. diese Z. **136**, 279 (1952).

[2] Chem. Techn. 8, 544—545 (1956). Dtsch. Amt f. Material- u. Warenprfg., Halle.

[3] Jentzsch, D., u. Mitarb.: diese Z. **144**, 1, 17 (1955); **146**, 88 (1955); **147**, 20 (1955); **148**, 321, 325 (1955/56).

[4] Analyst **78**, 363 (1953); vgl. diese Z. **142**, 375 (1954).

[5] Analyt. Chemistry **25**, 1260 (1953); vgl. diese Z. **143**, 296 (1954).

kohlenstoff aus und photometriert die mit Na_2SO_4 getrocknete organische Lösung unter Verwendung von Filter S 50 (Pulfrich-Photometer). *Citratlösung.* Man mischt 100 ml 50%ige Citronensäurelösung mit 100 ml 2%iger Gummiarabicumlösung und 1220 ml Ammoniaklösung (0,91), füllt mit Wasser auf 2000 ml auf und filtriert. Das Verfahren ist brauchbar für Aluminiumlegierungen mit 0,005–0,5% Cu und weniger als 1% Si und liefert sehr gute Ergebnisse. R. Klement

Zur Schnellbestimmung von Silicium und Mangan in Aluminiumlegierungen hat sich nach C. Freitag[1] im Betriebslaboratorium der von F. Fuchshuber[2] beschriebene Aufschluß mit dem Säuregemisch Phosphorsäure (D 1,7)/Salpetersäure (D 1,4)/Schwefelsäure (D 1,84) (50 : 40 : 10 Vol) bestens bewährt. Bei Legierungen mit viel graphitischem Silicium wird Bromzusatz empfohlen. Siliciumgehalte von 0,5 bis 20% lassen sich schnell und zuverlässig bestimmen. In einer gesonderten Einwaage wird das gleiche Säuregemisch zur Manganbestimmung, welche in bekannter Weise nach Procter-Smith durchgeführt wird, verwendet. Genaue Analysenvorschriften werden im Original mitgeteilt. H. Garschagen

Eine Methode zur mikroelektrolytischen Bestimmung von Blei als Bleioxyd in Zinn- und Bleilegierungen bei Bleigehalten von 5—100% neben beliebigen Anteilen Zinn, Antimon und Kupfer beschreiben C. Cimerman und M. Ariel[3]. — *Arbeitsweise.* 5—100 mg der Legierung (mit 2—10 mg Blei) werden in einem etwa 10 ml fassenden, mit Glasstopfen bedeckten Gefäß mit konz. Salzsäure versetzt. Für Bleigehalte von 30—100% sind 0,5 ml, für Gehalte von 5—30% Blei 1 ml Säure erforderlich. Nach beendetem Aufschäumen gibt man vorsichtig 5—10 Tropfen 30%iges Wasserstoffperoxyd zu und erhitzt im siedenden Wasserbad bis zum vollständigen Lösen der Probe, gegebenenfalls unter nochmaligem Zusatz von etwas Perhydrol. Die Lösung wird kurze Zeit aufgekocht, abgekühlt, der Glasstopfen wird aus einer Pipette mit 0,5 (30—100% Pb) bis 1,5 ml (5–30% Pb) Natriumsulfidlösung (30 g $Na_2S \cdot 9H_2O$ in 100 ml Wasser) abgespült. Nach Zugabe von einem Tropfen 1%iger alkoholischer Phenolphthaleinlösung wird die Probe unter Umschütteln bis zur Rotfärbung mit 30%iger Natronlauge versetzt. Die Fällung wird mit weiterer Natriumsulfidlösung vervollständigt, wobei je nach Bleigehalt 0,5 bis 1 ml oder mehr erforderlich sind. Die Lösung wird im siedenden Wasserbad mit lose aufgesetztem Stopfen etwa 15 min erhitzt, bis der schwarze Niederschlag von Kupfer- und Bleisulfid sich abgesetzt hat und die überstehende Lösung klar bleibt. Ist noch braunes Zinnsulfid sichtbar, muß weitere Natriumsulfidlösung zugegeben werden. Der Niederschlag wird durch ein Glasfilterstäbchen (Filterdurchmesser 4 mm) abgesaugt und 3—4 mal mit 3—4 ml einer Waschflüssigkeit gewaschen, die in 100 ml je 3 ml 30%ige Natriumsulfidlösung und 30%ige Natronlauge enthält. Gründliches Waschen bis zur Entfernung der Chlorionen ist erforderlich. Der Niederschlag wird mit 2 ml frisch ausgekochter Salpetersäure (1:3) in das Fällungsgefäß zurückgeführt und im nahezu siedenden Wasserbad bis zur Auflösung des Niederschlags erhitzt. Die Lösung wird von geringen Mengen Schwefel durch das Filterstäbchen in eine Clarke-Hermance-Mikroelektrolysenzelle gesaugt und Fällungsgefäß sowie Nutsche 5 mal mit je 1 ml frisch ausgekochter Salpetersäure (1:10) nachgewaschen (zweckmäßig unter Verwendung einer Vakuumglocke). Nach Zugabe von 2 ml Salpetersäure (1:1), 1 ml 0,1%iger Kupfernitratlösung und 30—50 mg Harnstoff wird auf 80—90° C erhitzt, ein mäßiger Luftstrom durchgeleitet und bei 1,8—2,0 V elektrolysiert. Nach 10 min wird der Rand des Elektrolysengefäßes mit 2 ml doppelt dest. Wassers abgespült

[1] Chem. Techn. **8**, 545—547 (1956). Amt f. Mat.- u. Warenprfg., Karl-Marx-Stadt.
[2] Diese Z. **116**, 421 (1939).
[3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **15**, 207—212 (1956). Inst. Technol. Haifa (Israel).

und die Elektrolyse noch 5 min fortgesetzt. Nach Entfernen des Elektrolyten spült man Gefäß und Elektroden gründlich mit 96%igem Äthanol ab, taucht die Anode in Alkohol, trocknet im Trockenschrank 5 min bei 120° C, kühlt 5 min auf einem Nickelblock, stellt auf die Waagschale einer Mikrowaage und wägt in der zehnten Minute. Der PbO_2-Niederschlag wird in Salpetersäure (1:1) und etwas Perhydrol gelöst, die Elektrode mit doppelt dest. Wasser, dann mit Alkohol abgespült, wie vorher getrocknet und gewogen. Der Bleigehalt der Probe errechnet sich aus der Differenz der beiden Wägungen mit Hilfe des theoretischen Umrechnungsfaktors 0,8662. — Unter den angegebenen Elektrolysebedingungen ist eine kathodische Abscheidung von Blei nicht zu befürchten. Die Dauer für eine Bestimmung beträgt 2—2½ Std. Beleganalysen mit Bleigehalten von 5—84% und verschiedenen Anteilen Zinn, Antimon und Kupfer zeigen gute Ergebnisse mit einem maximalen rel. Fehler von ± 0,6%. H. Garschagen

Zur Bestimmung von Bleisulfat, besonders in Akkumulatorenplatten, kombiniert G. Gabrielson[1] das Verfahren von F. P. Treadwell[2] mit einer Ionenaustauscher-Methode. Anstatt das bei dem Aufschluß mit Natriumcarbonat gemäß der Gleichung $PbSO_4 + Na_2CO_3 = PbCO_3 + Na_2SO_4$ gebildete Natriumsulfat über die Fällung als Bariumsulfat zu bestimmen, wird das Filtrat vom Bleicarbonat mit einem Kationenaustauscher in der H-Form behandelt und die dabei freigemachte Schwefelsäure mit Natronlauge titriert. — *Vorschrift für reines Bleisulfat.* Das Bleisulfat wird mit 200 ml 0,25%iger Natriumcarbonatlösung 1 Std lang gekocht. Nach dem Erkalten sättigt man die Lösung mit Kohlendioxyd, filtriert das Bleicarbonat ab und wäscht mit CO_2-gesättigtem Wasser. Filtrat und Waschwässer werden etwa 20 min lang mit dem Austauscher (Amberlite IR 120-H, 0,15—0.3 mm) gekocht. Nach dem Abkühlen wird die Lösung mit dem Harz in die Säule (Abmessung des Harzbettes: 14 cm hoch, 1 cm Durchmesser) gegossen. In der Säule befindet sich bereits eine 2—3 cm hohe Schicht desselben Austauschers. Man läßt die Lösung ablaufen und wäscht mit 50 ml Wasser nach. Nach 20 min langem Kochen des Durchlaufes und Abkühlen titriert man mit 0,1 n Natronlauge gegen Phenolphthalein. — *Vorschrift für Akkumulatorplatten.* Ein Stück von etwa 6 g wird in gleicher Weise wie zuvor beschrieben behandelt. Die Übereinstimmung mit dem Bariumsulfatverfahren ist sehr gut. Der maximale relative Fehler beträgt ± 0,4%. R. Klement

Die Sauerstoffbestimmung in Titanmetall, welche auf der Umsetzung mit Kohle und anschließender Analyse der entwickelten Gase beruht, wird von D. H. Wilkins und J. F. Fleischer[3] dahin abgeändert, daß an Stelle des bisher üblichen Eisen- oder Trockenbades ein Platinbad verwendet wird. Dieses hat den Vorzug, daß mehr Proben untersucht werden können, ohne daß das Bad fest wird. Der Platinverlust ist nur gering und fällt bei der durch die neue Arbeitsweise gewonnenen Zeitersparnis nicht ins Gewicht. — *Arbeitsweise.* Nach Beschicken des Ofens (genaue Beschreibung der Apparatur vgl. R. S. McDonald, J. E. Fagel jr. und E. W. Balis[4]) mit etwa 25 g Platin und den Proben wird der Tiegel 4—6 Std bei 2400° C entgast, bis weniger als 0,1 µl Gas pro min entweicht. Nach Abkühlen auf 1400° C gibt man das Platin innerhalb von 10 min in Anteilen von je 4—5 g zu, wobei jedesmal evakuiert wird. Dann evakuiert man etwa 10 min bei 1850° C, bis die Blindprobe 0,2—0,3 µl Gas/min anzeigt. Zur Überprüfung des Platinbades läßt man

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **15**, 426—428 (1956). A. B. Tudor, Nol (Schwed.).
[2] Kurzes Lehrbuch der analyt. Chemie, 11. Aufl., Wien 1935, Band 2, S. 400.
[3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **15**, 334—336 (1956). General Electric Comp., Schenectady, N. Y. (USA).
[4] Analyt. Chemistry **27**, 1632 (1955); vgl. diese Z. **155**, 220 (1957).

zu Beginn eine NBS-Eisenprobe durchlaufen, anschließend die Titanproben, bis das Bad etwa 10% Ti enthält, und schließlich nochmals zur Überprüfung des Bades eine standardisierte Probe. Das verunreinigte Platin wird nach Pulverisieren über das Chloroplatinat gereinigt. — Das Platinbad kann mit gleichem Erfolg zur *Sauerstoffbestimmung* in anderen Metallen, z. B. *Molybdän, Wolfram, Tantal, Zirkonium, Kupfer und hochschmelzenden Legierungen*, herangezogen werden.

H. Garschagen

Zur polarographischen Bestimmung von Chrom in Chrom-Molybdänlegierungen gibt D. G. Higgs[1] folgende gegen früher[2] verbesserte Arbeitsvorschrift an: Bei Cr-Gehalten zwischen 0,05 und 1,5% wird 1 g der Probe in 5 ml 12 m Salzsäure und 15 ml 6 m Salpetersäure in der Wärme klar gelöst und zur Trockne eingedampft. Nach dem Abkühlen wird mit 10—15 ml Wasser in einen Becher übergespült, zur vollständigen Oxydation des Chroms mit 25 Tropfen 30%igem Wasserstoffperoxyd versetzt und zusammen mit 20 ml 5 n Natronlauge 10 min im Sieden gehalten. Schließlich wird gekühlt und nach Zugabe von 1 ml 1%iger Gelatinelösung auf 50 ml aufgefüllt. Enthält die Probe bis zu 20% Cr, so wird von nur 0,2 g ausgegangen, die mit 2 ml Salzsäure und 10 ml Salpetersäure gelöst werden, auch werden dann nur 15 ml Natronlauge verwendet und es wird nach Zusatz von 2 ml Gelatinelösung auf 100 ml aufgefüllt. 5 ml der Endlösung werden dann 5 min mit Stickstoff behandelt und zwischen —0,5 und —1,3 V gegen die Quecksilberbodenanode polarographiert. Die Höhe der vorzüglich ausgebildeten Stufe wird mit Eichpolarogrammen verglichen. Sie ist der Konzentration linear proportional. Gehalte unter 2,5% Cr werden auf ± 2—3%, höhere Gehalte auf ± 1—2% genau erfaßt.

K. Cruse

Eisen, Stahl. C. Frick und K. F. Lauer[3] berichten über *Erfahrungen bei der spektralanalytischen Bestimmung der Spuren- und Begleitelemente im Roheisen*. Die Apparatur besteht aus einem 1,5 m-Gitterspektrographen der ARL, Sparc-Arc-Unit und dem Densitometer der gleichen Firma. Entwicklung, Platteneichung und Auswertung erfolgen nach den üblichen Verfahren. Die Verff. verwendeten viel Mühe auf die Gewinnung passender Eichsubstanzen. Soweit Testlegierungen nicht zur Verfügung standen, wurden Eichlösungen hergestellt, mit denen die gelösten Proben analysiert wurden. Z. T. konnten auf diese Weise dann feste sekundäre Standardproben gewonnen werden. Auch zur Gewinnung von Übersichtsanalysen bewährte sich das Lösungsverfahren, weil nur so über größere Bereiche der z. T. inhomogenen Gußstücke gemittelt werden konnte. Die Lösungen wurden mit Mikropipette oder Pt-Öse auf Kohlelektroden gebracht, unter einem Ultrarotstrahler getrocknet und im Hochspannungsfunken oder Wechselstromlichtbogen angeregt. Die Untersuchung enthält viele arbeitstechnischen Hinweise und Erfahrungen bei der Analyse der vielfältig zusammengesetzten Roheisenproben. Im einzelnen wird die *Bestimmung von Si, Mn, Ti, Cr, Cu, Ni, V, Co, Mo, Sn, Al und Mg* bearbeitet. Der Fehlerberechnung liegen jeweils etwa 50 Einzelbestimmungen zugrunde. Werden je 3 Einzelwerte zu einem Mittelwert zusammengefaßt, so ergeben sich Standardabweichungen, bezogen auf den Prozentgehalt von 1—4,4%.

H. Pfundt und H. Krempl[4] legen wichtige *Untersuchungen zur Emissionsspektralanalyse des Stahles mit dem Lichtelektrometer* vor. Bei diesem Gerät handelt es sich

[1] Analyst **81**, 656—660 (1956). Armament Res. a. Development Establishment, Fort Halstead, Kent (England).

[2] Bush, G. H., und D. G. Higgs: Analyst **80**, 536 (1955); vgl. diese Z. **151**, 37 (1956).

[3] Arch. Eisenhüttenwes. **27**, 557—562 (1956). Hess. Berg- u. Hüttenwerke A.G., Wetzlar.

[4] Arch. Eisenhüttenwes. **27**, 629—635 (1956). Techn. Hochsch. München.

im wesentlichen um einen Adapter für zwei Sekundärelektronenvervielfacher, die an Stelle einer Platte in die Brennebene eines Quarzspektrographen Q 24 gebracht werden. Mit Hilfe enger Eintrittsspalte können diese dann auf je eine Linie von Grundelement und Zusatzelement eingestellt werden. Deren Intensitätsverhältnis wird in einer geeigneten Kompensationseinrichtung und Röhrenmeßbrücke bestimmt und in Beziehung zur Konzentration gesetzt. Auf diese Weise ergeben sich unter Umgehung des photographischen Prozesses Eichkurven, die eine quantitative *Bestimmung von Si, Cr und Mn* in Eisen mit mittleren Fehlern der Einzelmessungen zwischen 2 und 5% ermöglichen. Die Anregung erfolgt mit dem Feußnerschen Funkenerzeuger. Einen wichtigen Teil der Arbeit stellen Untersuchungen über die zeitliche Konstanz der verwendeten Vervielfacher dar, die erhebliche individuelle Unterschiede aufweisen. Weiterhin werden Abfunkkurven bei Variation der Selbstinduktion im Entladekreis aufgenommen, die augenscheinlich mit der Abarbeitung der Elektrodenoberflächen und ihrer teilweisen Abdeckung durch Oxyde der Gegenelektrode zusammenhängen. Es ergibt sich, daß die Abfunkkurve, bei dem kleinsten der angewandten Selbstinduktionswerte von L = 5,2 mH schon nach etwa 70 sec einen konstanten Wert erreicht, während Abfunkkurven mit L = 80 mH und 215 mH zur gleichen Zeit noch ein hohes Maximum durchlaufen, und erst nach 3—4 min konstant werden.

J. van Calker

Zur photometrischen Bestimmung von Kupfer in Stahl benutzten L. J. A. Haywood und P. Sutcliffe[1] die äußerst selektive Farbreaktion mit *Bis-cyclohexanonoxalyldihydrazon*[2]. Die durch Kupfer hervorgerufene, lange Zeit beständige Blaufärbung, welche von den meisten Metallen unbeeinflußt bleibt, kann auch auf Nichteisenlegierungen übertragen werden. Lediglich Kobalt bedingt einen positiven Fehler, der berücksichtigt werden muß: 100% Co täuschen 5% Cu vor. Anwesenheit von Chrom(III)-ionen ruft ebenfalls zu hohe Kupferwerte hervor. Die Störung läßt sich jedoch durch Überführen von Chrom in die sechswertige Stufe praktisch vollständig ausschalten. Sulfat, Chlorid, Nitrat, Phosphat und Perchlorat sind ohne Einfluß auf die Methode. — *Arbeitsweise.* 0,1 g Probe werden unter Erwärmen in einer Mischung von je 5 ml Salz- (D 1,16) und Salpetersäure (D 1,42) gelöst. Bei Anwesenheit von Chrom erhitzt man nach Zugabe von 5 ml Perchlorsäure (D 1,70) bis zum starken Rauchen, wobei die Lösung orangerot wird. Nach Verdünnen mit 50 ml kaltem dest. Wasser versetzt man mit 10 ml Citronensäurelösung (50%ig an kristallisierter Säure), 10 ml Ammoniak (D 0,880) und füllt in einem Meßkolben zu 100 ml auf. Ein aliquoter Teil von 10 ml wird in einem 100 ml-Meßkolben mit 20 ml Reagens (0,1 g Bis-cyclohexanonoxalyldihydrazon werden nach Lösen in 10 ml Äthanol und 10 ml heißem Wasser zu 200 ml verdünnt und gegebenenfalls filtriert) versetzt, mit Wasser zur Marke aufgefüllt und nach 15 min bei 570 bis 600 mμ photometriert. Bei Gehalten bis zu 1,25% Cu verwendet man eine 4 cm-Küvette, darüber hinaus sind geringere Schichtdicken erforderlich. Die Berechnung erfolgt mittels Eichkurve, die aus reinen Cu-Lösungen unter Zusatz von Eisen aufgestellt wird. Das Beersche Gesetz ist erfüllt. — 12 Beleganalysen von Stählen, welche wechselnde Mengen Cr, Ni, Co, Mo, Mn, Nb, V, W, C, Si, S und P enthalten, zeigen die Brauchbarkeit der Methode, welche etwa 20—25 min erfordert. — *Eine halbquantitative Kupferbestimmung* ist mit Hilfe von folgendem Tüpfeltest möglich. Auf die gereinigte Metalloberfläche bringt man einen Tropfen Salz-, Salpeter-, Citronensäure (4 + 4 + 1), saugt nach 45 sec den Tropfen mit einem

[1] Analyst **81**, 651—655 (1956). Catton & Company Ltd., Yorkshire Steel Foundry, Hunslet, Leeds (England).

[2] Williams, T. R., and R. R. T. Morgan: Chem. and Ind. **1954**, 461; vgl. diese Z. **144**, 130 (1955).

Stück Filterpapier auf, hält über eine Flasche mit Ammoniak und gibt dann einen Tropfen Reagenslösung (4fache Konzentration wie oben) hinzu. 0,12% Cu können noch als blauer Fleck erkannt werden. Die Färbung ist ungefähr proportional dem Kupfergehalt. H. Garschagen

D. G. Gage[1] hat die *polarographische Bestimmung von Aluminium in Stahl* nach H. H. Willard und J. A. Dean[2] auf die *gleichzeitige Bestimmung von Aluminium und Zink in Magnesiumlegierungen* angewendet und arbeitet nach folgender abgewandelten *Vorschrift*. Die 0,5 g-Probe wird mit 10 ml 5 m Überchlorsäure gelöst und auf 50 ml verdünnt, so daß die Lösung etwa 5 mg Mg enthält. Entsprechend der alten Vorschrift[2] wird neutralisiert und gepuffert sowie mit Pontachromviolett versetzt, mit Stickstoff von Sauerstoff befreit und polarographiert. Der Al-Gehalt wird aus der Stufenhöhe bei —0,5 V gegen die gesättigte Kalomelelektrode, der Zn-Gehalt entsprechend bei —1,2 V und durch Vergleich mit Standardproben ermittelt. Enthält die Probe mehr Al als Zn, so wird Zn besser in verdünnterer Lösung, von einer 0,1 g-Probe ausgehend, bestimmt. Es wird über Anwendungen der Methode zur Untersuchung von Segregationen berichtet. K. Cruse

Eine Methode zur spektrophotometrischen Bestimmung von Aluminium als 8-Hydroxychinolat in Eisen- und Nichteisenlegierungen beschreiben R. J. Hynek und L. J. Wrangell[3]. Störungen durch andere Metalle werden ausgeschaltet durch Elektrolyse an einer Quecksilberkathode, Fällen mit 8-Hydroxychinaldin bei p_H 9,2, Chloroformextraktion und Zugabe von Wasserstoffperoxyd. Bei Gegenwart von nur geringen Mengen Fremdmetallen kann die Elektrolyse unterbleiben. Die Methode ist auf eine große Anzahl von Legierungen anwendbar und erstreckt sich über einen Bereich bis zu 10% Al. Die Aluminiumoxinatlösung besitzt ihr Absorptionsmaximum bei 389 mμ. Das Beersche Gesetz ist im Bereich 50—250 μg Al erfüllt. Zur Berechnung des Al-Gehaltes dient die Formel: μg Al = Extinktion $\times$ 203,6. — *Arbeitsvorschriften.* Die Endlösung darf in allen Fällen höchstens 1 mg Ti und 0,25 mg Mg enthalten. *I. Bestimmung von säurelöslichem Aluminium.* Bei einem Gehalt von 0,000—0,010% Aluminium (0,010—0,100%; 0,100—10,0%) werden 2,0 g (1,0 g; 0,5 g) Probe unter gelindem Erwärmen in 30 ml (20 ml; 15 ml) Mischsäure (Salzsäure, Salpetersäure, Wasser = 1 : 1 : 1) gelöst. Nach Zugabe von 10 ml 70%iger Perchlorsäure wird bis zur Entwicklung von Perchlorsäuredämpfen und 1—2 min darüber hinaus erhitzt, abgekühlt, mit Wasser verdünnt und gegebenenfalls filtriert. Bei einem Volumen von 100 ml in einem Elektrolysiergefäß, das 20 ml Quecksilber enthält, wird heiß 60 min (40 min; 20 min) bei 20 A (15 A; 15 A) elektrolysiert; nach Reduzieren der Stromstärke auf 5 A kühlt man die Probe auf etwa 40° C ab und spült sie aus dem Elektrolysengefäß. Ist die Lösung durch Permanganat gefärbt, so gibt man Eisen(II)-lösung bis zur Entfärbung zu. Enthält das Elektrolysat weniger als 250 μg Al, wird die gesamte Lösung nach etwaigem Filtrieren weiterverarbeitet, andernfalls ist aus einer Auffüllung ein geeigneter aliquoter Teil zu entnehmen. Man verdünnt im 250 ml Scheidetrichter zu etwa 100 ml und versetzt mit 2 ml 50%iger Weinsäurelösung, 2 ml 50%iger Ammoniumacetatlösung, und falls nicht die gesamte Probe verarbeitet worden ist, mit 5 ml 70%iger Perchlorsäure. Anschließend werden noch 12 ml 15 n Ammoniaklösung zugefügt. Eine Blindprobe aller verwendeten Reagentien ist gleichzeitig anzusetzen. Der

[1] Analyt. Chemistry **28**, 1773—1774 (1956). Defence Res. Board of Canada, Dartmouth, Nova Scotia (Canada).

[2] Analyt. Chemistry **22**, 1264 (1950); vgl. diese Z. **133**, 439 (1951).

[3] Analyt. Chemistry **28**, 1520—1527 (1956). Allis-Chalmers Manufacturing Co., Milwaukee, Wis. (USA).

Inhalt des Scheidetrichters wird mit 5 ml 8-Hydroxychinaldinlösung (12,5 g 8-Hydroxychinaldin werden in 25 ml Eisessig unter gelindem Erwärmen gelöst, nach Zugabe von 200 ml Wasser filtriert und zu 500 ml aufgefüllt) und 5 ml Chloroform 15—20 sec kräftig geschüttelt. Die wäßrige Phase wird solange mit Hydroxychinaldinlösung und Chloroform extrahiert, bis der Extrakt farblos oder schwach gelb gefärbt ist. Bei Aluminiumgehalten unter 0,100% fügt man 5 ml 30%iges Wasserstoffsuperoxyd zu und extrahiert noch zweimal mit je 5 ml Chloroform. Die wäßrige Phase wird zweimal mit je 3 ml 8-Hydroxychinolinlösung (Konzentration und Herstellung genau wie bei 8-Hydroxychinaldin) und 5 ml Chloroform und anschließend zweimal mit je 5 ml Chloroform extrahiert. Die Extrakte werden in einen 50 ml-Meßkolben, der etwa 1 g wasserfreies Natriumsulfat enthält, vereinigt und mit Chloroform aufgefüllt. Diese Lösung wird im Beckman-Spektralphotometer in 1 cm-Küvetten bei 389 mμ und 0,56 mm Spaltweite gegen den Blindwert der Reagentien gemessen. — *II. Bestimmung des säureunlöslichen Aluminiums.* Eine bis zu 250 μg säureunlösliches Al enthaltende Probemenge wird in der Mischsäure gelöst und mit 10 ml 70%iger Perchlorsäure abgeraucht. (Bei einer Einwaage > 2 g ist mehr Perchlorsäure erforderlich.) Nach Abkühlen und Verdünnen auf etwa 100 ml filtriert man unter Zugabe von Filterschleim, wäscht den Rückstand mit warmer 1%iger Schwefelsäure aus, verascht das Filter im Platintiegel und raucht nach Zugabe von je 2—3 Tropfen Schwefel- und Flußsäure vorsichtig ab. Der Rückstand wird mit maximal 2 g Kaliumpyrosulfat geschmolzen und die erkaltete Schmelze unter Erwärmen in 25 ml Wasser gelöst. Bei Anwesenheit von mehr als 10 mg Eisen ist eine Elektrolyse von 10 min bei 10 A erforderlich, andernfalls wird die Probe zu 100 ml verdünnt und im Scheidetrichter wie bei der Bestimmung des säurelöslichen Aluminiums weiterbehandelt. Zur Ermittlung des Aluminiumgehaltes des Kaliumpyrosulfates wird die gleiche Menge ($\pm$ 1 mg), die zum Aufschluß der Probe verwendet wurde, im Platintiegel geschmolzen, abgekühlt, in etwa 25 ml Wasser gelöst und genau wie die Probe weiterbehandelt. — *III. Arbeitsweise ohne Elektrolyse, für Legierungen mit geringen Mengen Cu, Fe, Mn, Zn und Cr.* Man löst 0,2 g Probe in 15 ml Mischsäure, raucht mit 10 ml 70%iger Perchlorsäure ab, kühlt, verdünnt und füllt zu 1000 ml auf. Im 250 ml-Scheidetrichter wird ein aliquoter Teil, der nicht mehr als 10 mg Probe und 250 μg Al enthalten soll, auf 100 ml verdünnt und nach Zugabe von je 2 ml 50%iger Weinsäure und 50%iger Ammoniumacetatlösung, 5 ml Perchlorsäure sowie 12 ml 15 n Ammoniaklösung mit je 10 ml 8-Hydroxychinaldinlösung und 30 ml Chloroform solange extrahiert, bis die Chloroformphase nur noch schwach gelb gefärbt ist. Man schüttelt noch mehrmals mit geringeren Mengen Reagenslösung und schließlich zweimal mit je 5 ml Chloroform aus und verfährt dann weiter wie bei I. — Nach den Methoden I und II zeigen 95% der durchgeführten Analysen im Bereich von 0—0,5% Al Abweichungen von $\pm$ 0,0006 von den Sollwerten, im Bereich von 0,5—1,5% Al liegen die Abweichungen bei $\pm$ 0,028, im Bereich von 1,5—7,0% bei $\pm$ 0,14. H. Garschagen

Zur Stickstoffbestimmung im Stahl durch Überführen in Ammoniak und Colorimetrieren haben E. J. Dubox und A. M. Mayoral[1] in Versuchen festgestellt, daß die Analysenergebnisse nicht beeinflußt werden durch die Art der Lösesäure (H_2SO_4, HCl, H_3PO_4, $HClO_4$). Zur Destillation ist nur so viel Lauge notwendig, daß die Lösung alkalisch wird; ein Überschuß ist ohne Bedeutung. Es ist auch ohne Belang, ob man in offener oder geschlossener Apparatur mit oder ohne Wasserdampf destilliert. Bei 0,5 g Einwaage ist das gesamte Ammoniak in 35 ml Destillat enthalten. Die Einwaage soll nicht kleiner sein als 0,4 g. Bei 0,5 g Einwaage beträgt die Bestimmungsgenauigkeit wenigstens 0,004%. — *Ausführung.* Man löst 0,5 g Probe

[1] An. Asoc. quím. argent. **43**, 227—237 (1955). Siam Di Tella Ltda.

in 30 ml Schwefelsäure (1:2), erhitzt bis zum Entweichen von Schwefelsäuredämpfen, kühlt, verdünnt mit 40 ml Wasser, gibt 50 ml 30%ige Natronlauge zu und destilliert in einem einfachen Destillierapparat, bis sich in der Vorlage 35 ml Destillat gesammelt haben. Man versetzt das Destillat mit 1 ml NESSLER-Reagens, verdünnt mit Wasser auf 50 ml und vergleicht die Farbe mit der von Standard-NH_4Cl-Lösungen. IRMGARD PFITZER

Zur photometrischen Bestimmung von Selen in rostfreiem Stahl und in Kupfer modifiziert K. L. CHENG[1] in Fortsetzung früherer Arbeiten[2] die von J. HOSTE und J. GILLIS[3] beschriebene Farbreaktion mit 3,3'-Diaminobenzidin. Störender Einfluß von Fremdmetallen wird durch Maskierung mittels Äthylendiamintetraacetat (ÄDTA) ausgeschaltet und die Selen-Diaminobenzidin-Verbindung (Piazselenol) durch Extraktion mit Toluol abgetrennt. — Für *rostfreien Stahl* wird folgende *Arbeitsweise* beschrieben: 0,5—1,0 g der Probe werden in 10 ml konz. Salzsäure und 5 ml konz. Salpetersäure unter gelindem Erwärmen gelöst, die Lösung wird bis auf 5 ml eingedampft, nach Zugabe von 50 ml Wasser in einen 250 ml-Meßkolben filtriert und aufgefüllt. Ein aliquoter Teil mit weniger als 100 μg Selen wird für je 1 mg Einwaage mit 0,2 ml 0,1 m ÄDTA-Lösung sowie einem geringen Überschuß versetzt und mit 7 m Ammoniaklösung auf p_H 2—4 gebracht. Nach Zugabe von 2 ml 2,5 m Ameisensäure soll die Lösung p_H 2—3 anzeigen. Man gibt 2 ml 0,5%ige Diaminobenzidinlösung zu und läßt mindestens 30 min stehen. Anschließend stellt man mit 7 m Ammoniaklösung auf p_H 6—7 ein, schüttelt 30 sec im Scheidetrichter mit 10 ml Toluol und zentrifugiert den Toluolextrakt bis zur Klärung. Die Lichtabsorption des Extraktes wird in einer 1 cm-Küvette bei 420 mμ bestimmt. Der Selengehalt der Probe ergibt sich aus einer Eichkurve, die mit reinen Selenlösungen anzufertigen ist. Eine Blindprobe aller Reagentien ist gleichzeitig anzusetzen. — *Arbeitsweise für Kupfer.* 1 g Probe wird in 20 ml Salpetersäure (1:1) gelöst, bis auf 2—3 ml eingeengt, mit 40 ml Wasser verdünnt, mit 6,5 g festem ÄDTA (Dinatriumsalz) und soviel 7 m Ammoniaklösung versetzt, daß die Lösung neutral und alles gelöst ist. Mit konz. Salzsäure wird auf p_H 2,5—3,0 eingestellt, nach Zugabe von 5 ml 2,5 m Ameisensäure und 2 ml 0,5%iger Diaminobenzidinlösung läßt man die Probe mindestens 30 min stehen, bringt mit 7 m Ammoniaklösung auf p_H 6—7, extrahiert mit 10 ml Toluol und bestimmt im Extrakt Selen wie oben. Das Beersche Gesetz ist bis zu Gehalten von 0,01% Selen erfüllt.

H. GARSCHAGEN

Zur schnellen photometrischen Chrombestimmung in Ferrochrom eignet sich nach S. MIZOGUCHI[4] die Messung der grünen Farbe, die man beim Lösen der Probe in Schwefel-Phosphorsäure erhält. Die Färbung ist mindestens 60 min beständig. Bis zu 50 mg Fe, 5 mg Ni und 0,5 mg Cu verursachen keinen großen Fehler. Für die Ausführung einer Bestimmung benötigt man etwa 20 min. — *Ausführung.* 0,1 g Probe werden im 100 ml-Becherglas mit 10 ml Schwefelsäure (1 : 1) und 5 ml Phosphorsäure (D 1,7) gelöst und danach eben bis zum Rauchen erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit Wasser aufgenommen und im 50 ml-Meßkolben bis zur Marke aufgefüllt. Die Messung wird in 20 mm Schichtdicke bei 610 mμ durchgeführt. Die Eichkurve ist unter diesen Bedingungen bis 70 mg Cr linear.

H. POHL

---

[1] Chemist-Analyst **45**, 67—68 (1956). Westinghouse Electric Corp., East Pittsburgh, Pa. (USA).

[2] CHENG, K. L.: Analyt. Chemistry **28**, 1738 (1956); vgl. diese Z. **157**, 117 (1957).

[3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **12**, 158 (1955); vgl. diese Z. **148**, 230 (1955/56).

[4] Jap. Analyst **5**, 452—455 (1956) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. refer.) Toyo Denkyoku Industry Co. (Japan).

Die Antimonbestimmung in Erzen und Konzentraten kann nach J. Doležal und P. Beran[1] mit sehr gutem Erfolg polarographisch in 8 n salzsaurer Lösung durchgeführt werden. Von den zwei auftretenden Stufen mißt man die Höhe der zweiten Stufe, die der Reduktion von Sb^{III} zum Metall entspricht. Zur Unterdrückung der Maxima kann Gelatine zugefügt werden. Störungen durch Fe, Cu und As lassen sich in gewissen Grenzen durch Zugabe von Hypophosphit beseitigen, wobei Eisen zu Fe^{II}, Kupfer zu Cu^{I} und Arsen zum Metall reduziert wird. So gelingt die Trennung des Antimons von Kupfer bis zum Mengenverhältnis Sb : Cu = 1 : 1. Man arbeitet in diesem Falle am besten im Milieu von konz. Salzsäure oder in 8 n Salzsäure, die mit KCl gesättigt ist. Gelatine darf hier nicht zugegeben werden. Die Welle des 3-wertigen Wismuts fällt mit der zweiten Welle des Antimons zusammen. — *Sb-Bestimmung in Erzen und Konzentraten.* Man erhitzt 1 g der fein gepulverten Probe im lose verschlossenen 100 ml-Meßkolben mit 5 ml konz. Schwefelsäure bis zum Verschwinden unzersetzter schwarzer Teilchen, verdünnt nach dem Erkalten mit 10 ml Wasser, füllt mit konz. Salzsäure zur Marke auf, bringt je 20 ml der Lösung in zwei 50 ml-Meßkolben, gibt in einen davon 1—3 ml Standardantimonlösung (0,1 g Sb-Metall in 5 ml Schwefelsäure gelöst, mit konz. Salzsäure auf 100 ml aufgefüllt), versetzt beide Kolben mit je 1,2 g Natriumhypophosphit und 5 ml Wasser, füllt nach 10—20 min, wenn Arsen sich als Metall abgeschieden hat, mit konz. Salzsäure zur Marke auf, läßt über Nacht stehen und polarographiert 5—10 ml der Lösung von — 0,15 V bis — 0,35 V (gemessen gegen die gesättigte Kalomelektrode). — *Sb-Bestimmung in Erzen und Konzentraten, die Bi und größere Mengen Cu enthalten.* Man mischt 1 g Probe mit der sechsfachen Menge eines Gemisches von 3 Teilen Schwefel und 1 Teil Soda, schmelzt 2 g des erhaltenen Gemisches gründlich, läßt erkalten, zieht die Schmelze mit 100 ml heißem Wasser aus, filtriert unter Dekantation und wäscht zuerst mit 1%iger Natriumsulfidlösung und dann mit heißem Wasser, das etwas KCl enthält. Das Filtrat säuert man mit Essigsäure gegen Lackmus an, läßt die Sulfide absetzen, dekantiert, wäscht mit wenig heißem Wasser, löst den Niederschlag in 25 ml 0,2 m Natronlauge, filtriert, wäscht mit heißem Wasser, oxydiert das Filtrat mit 5 ml 40%igem Wasserstoffperoxyd, zerstört den Überschuß durch Kochen, engt auf etwa 25 ml ein, füllt im 100 ml-Meßkolben mit konz. Salzsäure zur Marke auf und verfährt weiter wie oben, wobei man die Dauer der Reduktion mit Hypophosphit durch Erwärmen auf 60° C auf etwa 20 min verkürzen kann. — Die Bestimmungsfehler betragen bei Untersuchung der Erze (mit etwa 1,7% Sb) 10%, bei Untersuchung der Konzentrate (mit etwa 2,3% Sb) 5%. H. Kurtenacker

Colorimetrische Bestimmung von Niob und Tantal in Erzen. Das von F. V. Zaikovskij[2] in allen Einzelheiten ausführlich beschriebene Verfahren ist eine Erweiterung und teilweise Abänderung der vom Verf. bereits früher[3] entwickelten Trennungs- und Bestimmungsmethode. Man führt die Elemente in Oxalate über und verwandelt sie durch Zusatz von Brenzcatechin in Komplexverbindungen, die sodann mit n-Butanol extrahiert werden. Bei verschiedenen p_H-Werten werden hierbei nur Nb, Ta und Ti extrahiert, während andere Elemente (Fe, Zr, W, Al u. a.) nicht erfaßt werden und daher nicht stören. Bei p_H 7 werden Nb und Ta völlig, Ti nur zu 30% extrahiert; bei p_H 3 jedoch werden nur Ti und Ta extrahiert. Wird nun der Extrakt mit verd. Salz- oder Schwefelsäure bearbeitet, so geht Ti in die wäßrige Phase über, Ta bleibt im Extrakt. Damit wäre also die Trennung durchgeführt, und es bliebe noch die colorimetrische Bestimmung des Nb und Ta, die mit Brenz-

[1] Chem. Listy **50**, 1757—1760 (1956) [Tschechisch]. Univ. Prag (Tschechoslow).

[2] Ž. anal. Chim. **11**, 553—559 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zusammenfassung.) Allunions wiss. Forschungsinst. für Mineralrohstoffe.

[3] Zaikowskij, F. V., Ž. anal. Chim. **11**, 269 (1956); vgl. diese Z. **155**, 136 (1957).

catechin auszuführen ist, wobei in beiden Fällen gelbe Färbungen entstehen. Man kann auch mit Pyrogallol trennen, jedoch ist dessen Anwendung infolge seiner leichten Oxydierbarkeit weniger zu empfehlen. Zurückgebliebene Spuren von Ti stören die colorimetrische Bestimmung. — *Ausführung.* Man bearbeitet die Erzeinwaage mit Fluß-, dann Schwefelsäure und schmelzt den Rückstand mit K-Pyrosulfat. Sollte Sn zugegen sein (Kassiterit), so ist die Einwaage mit Kaliumhydrofluorid zu behandeln und nach Entfernung des F-Ions die Summe Nb + Ta mit Tannin zu fällen. Auch in Abwesenheit von Sn wird mit Tannin gefällt, der filtrierte und gewaschene Niederschlag mit K-Pyrosulfat geschmolzen und in 25 ml 3%iger NH_4-Oxalatlösung aufgelöst. In der Oxalatlösung werden 6% Brenzcatechin gelöst, man setzt tropfenweise Ammoniak und gesättigte Na_2SO_3-Lösung (bis zum Dunkelwerden — Reaktion mit Fe — dann noch 5 ml) hinzu (p_H 7—8) und extrahiert dreimal mit n-Butanol (12—15, 8—10 ml). Die vereinigten Extrakte werden trockengedampft (nochmals nach Wasserzusatz), in 20—30 ml 10%iger Schwefelsäure gelöst und mit 8—10 ml 3%iger Kupferronlösung gefällt. Die verglühten Kupferronate werden mit K-Pyrosulfat geschmolzen und mit Ammoniumoxalatlösung wieder in Lösung gebracht, durch Zusatz von Na_2SO_3- oder verd. H_2SO_4-Lösung sorgfältig auf p_H 2,5—3 gebracht (Indicator: Kongorot), dann werden 4 g Brenzcatechin darin gelöst, die Lösung wird 4—5mal mit n-Butanol extrahiert, bis der Extrakt völlig farblos ist. Die Oxalatlösung (Nb) wird colorimetriert, indem man 2 ml Brenzcatechinlösung zusetzt (sie muß farblos bleiben: völlige Abscheidung des Ti). Die Farbe wird erst nach Zusatz von 1—3 ml gesättigter Na_2SO_3-Lösung und Auffüllen mit 3%iger NH_4-Oxalatlösung mit Blaufilter unter Verwendung von Vergleichslösungen 5—6 min nach dem Zusatz colorimetriert. — Der n-Butanolextrakt (Ti und Ta) wird im Scheidetrichter 2—3mal mit je 10—15 ml 3%iger Schwefelsäure reextrahiert: Ti bleibt in der wäßrigen Phase, Ta im n-Butanol. Die Butanolphase wird zweimal trockengedampft, in 10—20 ml 10%iger H_2SO_4 gelöst. Man setzt 1 ml 1%ige Zr-Salzlösung und 8—10 ml Kupferronlösung hinzu, filtriert, glüht und schmelzt den Rückstand mit K-Pyrosulfat, löst die Schmelze in NH_4-Oxalatlösung, fügt 1 g Brenzcatechin hinzu, bringt mit Indicator- oder Lackmuspapier auf p_H 7—8, und extrahiert mit Butanol. Das Ta-Brenzcatechinat wird 2—3mal mit je 5—6 ml 3%iger Schwefelsäure behandelt, zweimal trockengedampft, in H_2SO_4 gelöst, mit Zr-Salz und Kupferronlösung gefällt, die verglühten Kupferronate werden mit K-Pyrosulfat und NH_4-Oxalat in Lösung gebracht und das Ta colorimetriert: 1—3 ml dieser Lösung werden mit 0,5 ml 5%iger H_2SO_4 und 1 ml Brenzcatechinlösung versetzt und mit NH_4-Oxalatlösung auf 10 ml aufgefüllt. Hierbei ist die Anfertigung von Vergleichlösungen (mit wechselnden Ta-Mengen) sowie von typischen Lösungen, die geringe Ti-Mengen (und 2—3 Tropfen H_2O_2) enthalten, unerläßlich, da Ti in Spuren doch noch enthalten sein könnte. Sind nur geringe (0,1—0,5%) Ti-Mengen im Erz vorhanden, so kann der Analysengang vereinfacht werden; dasselbe gilt, wenn nur Nb oder Ta allein zu bestimmen sind. Bei der Ta-Bestimmung kann statt Brenzcatechin auch Pyrogallol verwendet werden. Jedoch dauert auch die Bestimmung des Ta allein 6—8 Std. — Die Brenzcatechinlösung wird 20%ig verwendet, wobei zu 50 ml der Lösung 2 ml 15%ige $SnCl_2$-Lösung in 10%iger HCl zugegeben wird (Haltbarkeit 5—6 Tage); die optimale Konzentration beim Colorimetrieren beträgt 4—5% Brenzcatechin oder Pyrogallol. A. v. Wilpert

Zur Bestimmung des Sulfid-Schwefels in Mineralien, wobei der Sulfatschwefel nicht miterfaßt wird, verwenden A. R. V. Murthy, V. A. Narayan und M. R. A. Rao[1] die Reaktion zwischen Jodwasserstoffsäure und Metallsulfiden[2]. Unter

[1] Analyst **81**, 373—375 (1956). Indian Inst. Sci., Bangalore (Indien).

[2] Rao, B. S., and M. R. A. Rao: Proc. Xth Int. Congr. **3**, 462 (1938). — A. R. V. Murthy: Proc. Indian Acad. Sci. **36**, 389, 425 (1952).

Bildung der komplexen Metalljodide wird dabei Schwefelwasserstoff frei, der mit Hilfe eines Stickstoff- oder Wasserstoffstromes in eine Cadmiumhydroxydsuspension eingeleitet und anschließend jodometrisch bestimmt wird. — *Ausführung.* 0,1—1 g des fein gepulverten Minerals werden in das Zersetzungsgefäß (Abb. 1) gebracht; mit Wasserstoff oder Stickstoff wird die Luft entfernt und anschließend

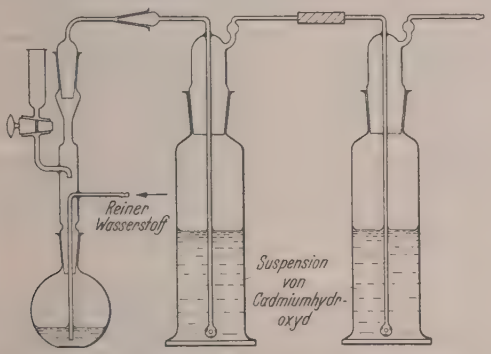

Abb. 1. Apparatur zur Sulfidschwefel-Bestimmung in Mineralien nach MURTHY und Mitarb.

werden 5—10 ml einer Mischung aus gleichen Volumteilen von 50%iger wäßriger Kaliumjodidlösung und konz. Salzsäure zugesetzt. Man läßt (ggf. unter Erwärmen der Flüssigkeit) den Gasstrom noch 1 Std weiterlaufen und schüttelt das Zersetzungsgefäß gelegentlich um. Die Waschflaschen sind gefüllt mit je 10 ml 1 n Natronlauge und 50 ml 2%iger Cadmiumacetatlösung. Nach beendeter Zersetzung nimmt man die Waschflaschen ab, säuert deren Inhalt mit 2 n Essigsäure an, die einen Überschuß an eingestellter Jodlösung enthält, und titriert mit Thiosulfatlösung zurück.

K. BRODERSEN

Die flammenphotometrische Analyse von Oxydkathoden führen J. ÁDÁM, K. ETTRE, GY. GERGELY und F. P. VÁRADI[1] mit dem von GY. GERGELY und F. P. VÁRADI[2] konstruierten Flammenphotometer aus. Das schon beschriebene Verfahren ist sehr genau, es genügt die Erdalkalicarbonat- bzw. Erdalkalioxydmenge einer einzigen Kathode einer kleinen Elektronenröhre mit etwa 30 μg Substanz. Von Wolframkathoden wird der Beschlag mit Salpetersäure 1 : 1 gelöst, von Nickelflächen wird er abgekratzt und dann ebenso gelöst und auf 5 ml verdünnt. Zur Analyse werden die Linien Ba 4934, Sr 4607 und Ca 4226 A benützt. Die Genauigkeit beträgt 2—3%.

J. PLANK

Zur maßanalytischen Schnellbestimmung der Kieselsäure in fluorhaltigen Stoffen (löslichen und unlöslichen Fluoriden) haben I. SAJÓ und L. BARNA[3] ihr früher beschriebenes Verfahren[4] der Kieselsäurebestimmung in Silicaten usw. weiterentwickelt. — *Ausführung. Wasser- und säurelösliche Fluoride.* In einem Kunststoffbecher gibt man zu der, vorher 1—2 min gekochten und abgekühlten

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **62**, 223—225 (1956) [Ungarisch]. (Mit engl. Zusammenfassung.) Forsch. Inst. Fernmeldedienst, Budapest.

[2] Magyar Kémiai Folyóirat **61**, 182 (1955); vgl. diese Z. **150**, 194 (1956).

[3] Acta chim. Acad. Sci. hung. **10**, 19–25 (1956). Inst. f. industr. Eisenforsch. Budapest.

[4] SAJÓ, I.: Acta chim. Acad. Sci. hung. **6**, 243 (1955); vgl. diese Z. **152**, 240 (1956).

Mischung von 30 ml Salpetersäure (D 1,24) und 10 ml Salzsäure (D 1,19) 1—2 g des in Wasser oder Säuren löslichen Fluorids und rührt 1—2 min mit magnetischem Rührer. Nach Zugabe von pulverisiertem Kaliumchlorid p. a. bis zur Sättigung, wird der gebildete Niederschlag auf einem Porzellansaugfilter mit Filterbreieinlage gesammelt und mit einer 50% Alkohol enthaltenden, mit Kaliumchlorid gesättigten Waschflüssigkeit von p_H 6—7 säurefrei gewaschen. Man überträgt in heißes Wasser und titriert die infolge Hydrolyse gebildete Flußsäure mit einer Natriumhydroxydmaßlösung unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator. *Von in Wasser oder Säuren unlöslichen Fluoriden* werden 0,1—0,2 g in einer Silberschale mit Kaliumhydroxyd geschmolzen, die Schmelze wird in max. 60 ml Wasser gelöst, die Lösung in einen Kunststoffbecher übertragen und mit der erkalteten, 1 min gekochten Mischung von 20 ml Salzsäure (D 1,19), 10 ml Salpetersäure (D 1,4) und 10 ml Wasser versetzt. Die Lösung wird gerührt, mit 1 g Natriumfluorid versetzt und nach dessen Auflösen mit Kaliumchlorid gesättigt. Die Weiterbehandlung erfolgt wie oben. Sollte die Einwaage mehr als 5 mg Aluminium enthalten, werden 0,5 g der Substanz mit 0,5 g gefälltem Calciumcarbonat vermischt, wie oben aufgeschlossen und verarbeitet. J. Plank

Borsäure, freie Fluoborwasserstoffsäure und Bleifluoborat in Bleielektrolyten bestimmen A. S. Gosteva und T. W. Sinicyna[1], indem sie einen Teil der Probe das Blei nach einem üblichen Verfahren, z. B. jodometrisch, feststellen und als $Pb(BF_4)_2$ berechnen. Ein anderer Teil der Probe wird durch Kochen mit Magnesiumsulfat hydrolytisch gespalten. Die nach den Gleichungen:

$$Pb(BF_4)_2 + 6H_2O = 6H^+ + 2H_3BO_3 + Pb^{++} + 8F^- \quad (I)$$

und

$$HBF_4 + 3H_2O = 4H^+ + H_3BO_3 + 4F^- \quad (II)$$

entstandene freie Schwefelsäure wird mit Lauge gegen Methylorange titriert. Pb und F stören dabei nicht, da sie als Sulfat bzw. Fluorid ausfallen. Zieht man von dem Laugeverbrauch den auf $Pb(BF_4)_2$ entfallenden Anteil ab, so ergibt der Rest die freie Fluoborwasserstoffsäure. Die austitrierte Lösung wird zur Bestimmung der gesamten Borsäure nach Zusatz von Glycerin, Mannit oder Invertzucker mit Lauge gegen Phenolphthalein als Indicator titriert. Zur Berechnung der freien Borsäure zieht man von dem neuen Laugeverbrauch die Anteile ab, die nach den Gleichungen I u. II auf die durch die Hydrolyse gebildete Borsäure entfallen. Die Konzentration des Magnesiumsulfats in der Reaktionslösung soll 0,5—2 m sein, die Menge der Fluorwasserstoffsäure und ihrer Salze ungefähr 1 Millimol. — *Arbeitsweise.* Man verdünnt den filtrierten Elektrolyten mit der 10fachen Menge Wasser, bringt 5 ml in einen Kolben, setzt 15 ml gesättigte Magnesiumsulfatlösung sowie 30 ml Wasser hinzu und kocht 1 Std am Rückfluß. Dann wird das Kühlerrohr ausgespült und die Lösung mit 0,1 n NaOH-Lösung gegen Methylorange auf Gelb titriert. Man setzt nun Phenolphthalein und 10 ml Glycerin (oder Invertzucker oder 1 g Mannit) zu und titriert mit 0,1 n Natronlauge bis zum Umschlag nach Rosa. W. Böhm

Zur Titration von Mineralsäuren und Mineralsäuregemischen verwendet S. K. Čirkov[2] ein elektrometrisches Titrationsverfahren, das ohne Kompensation durchgeführt wird. Indicatorelektrode ist ein Platindraht, Bezugs-(Vergleichs-) elektrode eine Sulfat-Kupferelektrode, die ein Potential von etwa 0,30 V gegen die Wasserstoffelektrode besitzt. Das Potential ändert sich auch bei langer Beanspruchung nur unwesentlich. Indicator- und Bezugselektrode sind über einen Wider-

[1] Zavodskaja Laborat. **22**, 1180—1181 (1956) [Russisch].

[2] Zavodskaja Laborat. **22**, 1041—1044 (1956) [Russisch]. Uraler staatl. A. M. Gorki-Univ.

stand (etwa 20000 Ω) und ein Galvanometer (mit wenigstens 160 Ω Widerstand) oder ein Mikroamperemeter miteinander verbunden. Während der Titration wird die Lösung mit 160—180 U/min gerührt. Titriert wird mit 0,1 n Natronlauge in Gegenwart von Permanganat, das die Empfindlichkeit der Titration infolge Ausbildung des p_H-abhängigen Redoxgleichgewichtes zwischen 2- und 7wertigem Mangan bedeutend erhöht. Bei der Änderung des p_H-Wertes um eine Einheit ändert sich das Potential der Platinelektrode um 93 mV. Es werden ungefähr 5 ml einer 0,05 n Permanganatlösung je 50 ml der zu titrierenden Lösung genommen. Auf den wie üblich aufgenommenen Titrationskurven (Galvanometerausschläge gegen verbrauchte Milliliter 0,1 n Natronlauge) zeigen die gefundenen Werte gute Übereinstimmung mit den theoretischen Zahlen. Titriert wurden Lösungen von *Salpetersäure Orthophosphorsäure* (2 Wendepunkte). *Chromsäure* (2 Wendepunkte), *Gemische von Schwefelsäure (Salpetersäure) und Orthophosphorsäure* (der 1. Wendepunkt entspricht der Summe von Schwefelsäure [Salpetersäure] + $^1/_3$ Phosphorsäure, der 2. Wendepunkt dem zweiten Drittel der Phosphorsäure) und *Gemische von Schwefelsäure und Chromsäure* (im 1. Wendepunkt bekommt man die Summe Schwefelsäure + 1. Hälfte der Chromsäure, im 2. Wendepunkt die 2. Hälfte der Chromsäure).

W. Böhm

Untersuchung der SO_2-Gase in Schwefelsäurefabriken. F. S. Maron und B. P. Volgin[1] beschreiben eine Apparatur, die die gleichzeitige Bestimmung des Gehaltes der Gase an Selen, Arsen, Schwefelsäurenebeln und Flugstaub gestattet. Das zu untersuchende Gas wird aus dem Leitungsrohr mit einer Vakuumpumpe durch ein Elektrofilter gesaugt, an das eine Spannung von 2100—2200 V angelegt wird. Das Kondensat sammelt sich in einem kugelförmigen Gefäß unter dem Filter und kann daraus durch einen Glashahn abgelassen werden. Zur Messung des Drucks bei der Probenahme ist ein Manometer vor das Filter geschaltet; hinter das Filter sind ein Rheometer zur Messung der Gasgeschwindigkeit und ein Thermometer zur Messung der Gastemperatur geschaltet. — Die Strömungsgeschwindigkeit des Gases beträgt 3—4 l/min. Der Flugstaub wird durch Abfiltrieren, Trocknen und Wägen bestimmt, worauf man das darin enthaltene Selen mit Salpetersäure löst. Se im Kondensat wird mit Zinn(II)-chlorid reduziert, As wird mit Permanganat zu As^{5+} oxydiert, in Arsenomolybdat übergeführt und nach Reduktion mit Hydrazinsulfat als Molybdänblau colorimetriert; Schwefelsäure wird durch Titration ermittelt.

W. Böhm

Polarographische Bestimmung von elementarem Schwefel in Petroleum und seinen Fraktionen. H. V. Drushel, J. F. Miller, W. Hubis und R. O. Clark[2] haben auf der Methode von M. E. Hall[3] aufbauend folgendes verbessertes Verfahren zur polarographischen Bestimmung von elementarem Schwefel in Petroleum und Petroleumfraktionen angegeben: Die Probe, die einen Diffusionsstrom von höchstens 10 μA liefern soll, wird genau eingewogen und mit einer Grundlösung auf 25 ml aufgefüllt, die 10 mg Methylenblau je Liter Methanol-Benzolgemisch 1 : 3 enthält und 0,19 m an Ammoniumacetat sowie 0,087 m an Essigsäure ist. Die Lösung wird 15 min mit Stickstoff entlüftet, der zuvor mit Grundlösung gesättigt ist. Unter Stickstoff wird dann von —0,2 V beginnend gegen eine Silber-Silbersulfid-Elektrode polarographiert (Tropfelektrode mit $m^{2,3}\,t^{1,6} = 1{,}948\ mg^{2/3}\,sec^{-1/2}$ bei offenem Stromkreis und 26 ± 1° C in Grundlösung). Die Tropfelektrode wird vor jeder Bestimmung mit Benzol, Methanol, Wasser, konz. Salpetersäure, Wasser und schließ-

[1] Zavodskaja Laborat. **22**, 1039—1040 (1956). Uraler chemisches Forsch.-Inst.

[2] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **15**, 394—400 (1956). Mellon Inst. Ind. Res. und Gulf Res. a. Development Comp., Pittsburgh, Pa. (USA).

[3] Analyt. Chemistry **25**, 556 (1953); vgl. diese **Z. 144**, 66 (1955).

lich wieder Methanol gereinigt und getrocknet. Die Sulfidelektrode wird täglich durch Eintauchen eines Silberdrahts in konz. Salpetersäure für 2—3 sec und Sulfidieren in 2%iger Natriumsulfidlösung für ebenfalls 2—3 sec regeneriert und nach Abspülen mit Wasser direkt verwendet. Zur Auswertung gelangt die Stufe bei $E_{1/2} = -0{,}58$ V (gegen die Ag_2S-Elektrode). Das Polarogramm zeichnet sich durch einen sehr geringen Grundstrom aus und dadurch, daß die auch nach HALL beobachtete Vorstufe besser getrennt erscheint. Durch Verwendung der Ag_2S-Elektrode wird ein gegenüber der Messung mit der Kalomelelektrode um 0,2 V edleres Halbstufenpotential erzielt. Der hohe Benzolgehalt läßt auch die Analyse von Rohölen zu. Die Ergebnisse sind auf 1% genau reproduzierbar, die Relativgenauigkeit der Bestimmungen liegt bei 5%. K. CRUSE.

Anodische Polarographie von Schwefelverbindungen in Petroleum und seinen Fraktionen. Nach H. V. DRUSHEL und J. F. MILLER[1] lassen sich durch Polarographie an der Platinanode *cyclische und acyclische aliphatische Sulfide* sowie *Alkylarylsulfide* nachweisen. Zweckmäßig wird als Grundlösung das Gemisch von 17 ml konz. Salzsäure mit 300 ml Methanol und mit Nitrobenzol zu 1 Liter aufgefüllt verwendet, in dem die Rohöle löslich sind. Allerdings sind auf 1—2% reproduzierbare Ergebnisse nur erzielbar, wenn die Platinmikroelektrode sorgfältig mit Wechselstrom (1000 Hz) 15 min vorpolarisiert wird. Es wird gegen eine Ag/AgCl-Elektrode ohne Überführung polarographiert. Der Innenwiderstand liegt dann bei nur 200 Ohm. Höhere Thiole, n-Butyl-, i-Butyl- und n-Decylmercaptan sowie Schwefelwasserstoff liefern keine polarographischen Spitzen, die Oxydationspotentiale der aromatischen Sulfide, der kondensierten Thiophene und von Disulfiden, auch einiger Polysulfide liegen höher als das Zersetzungspotential der Grundlösung. Zur Auswertung der Polarogramme muß stets mit dem Polarogramm der Grundlösung verglichen werden. K. CRUSE

Zur quantitativen Bestimmung kleiner Olefingehalte in Petroleum verwenden F. A. LEISEY und J. F. GRUTSCH[2] die *coulometrische Titration* mit elektrolytisch erzeugtem Brom und mit amperometrischer Endpunktsanzeige. — *Arbeitsvorschrift*: Es wird in einer Grundlösung gearbeitet, die aus 30 ml Eisessig, 13 ml Methanol und 7 ml 1 n KBr-Lösung besteht und 0,1 g Quecksilber(II)-acetat enthält. Zur Bromerzeugung taucht ein Platinelektrodenpaar ein, dessen Kathode sich innerhalb eines unten offenen Rohrs befindet (5 cm-Spirale in 8 mm weitem Rohr) und dessen Anode als 10 cm-Spirale um das Glasrohr gewickelt ist. Zur Endpunktsanzeige dient ein zweites Platin-Elektrodenpaar (Kathode: 1 cm Platindraht, Anode: 3 cm Spirale). Zunächst wird im Blindversuch so lange elektrolysiert, bis der Stromfluß zwischen diesen Elektroden bei 200 mV angelegter Spannung 12 μA übersteigt, wodurch der Generatorstrom über ein Relais unterbrochen wird. Nach Zugabe der Probe, deren Menge je nach Olefingehalt so bemessen wird, daß mit 1—5 mA elektrolysiert werden kann, wird dann unter konstantem Rühren elektrolysiert bis der Bromüberschuß den Indicatorstrom wieder auf 12 μA ansteigen läßt und die Elektrolyse abgeschaltet wird. Handelt es sich um nur langsam bromierbare Olefine, so ist zur Kontrolle des Endpunkts auf Konstanz des Indicatorstroms zu prüfen. Nach 40 sec Wartezeit soll bei Wiedereinschalten des Elektrolysierstroms die automatische Abschaltung innerhalb 4 sec erfolgen. Andernfalls muß nach weiteren Wartezeiten von jeweils 40 sec die Prüfung wiederholt werden. Bei Analysen synthetischer Mischungen mit einer Bromzahl zwischen 0 und 180 liegt der Fehler

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **15**, 389—393 (1956), Mellon Inst. Ind. Res., Pittsburgh, Pa. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **28**, 1553—1555 (1956). Standard Oil Co., Whiting, Ind.

unter 0,5%. Ein Thiophengehalt von 200—500 ppm läßt den Fehler an 4% grenzen. In der Regel kann bei Raumtemperatur titriert werden, da bei so geringer Stromstärke mit Nebenreaktionen nicht gerechnet zu werden braucht. K. Cruse

Thiophennachweis in Rohöl. Nach C. J. Thompson, H. J. Coleman, L. Mikkelsen, D. Yee, C. C. Ward und H. T. Rall[1] gelingt der Nachweis von bis zu 0,000032% Thiophen und 2-Methylthiophen in Rohöl (Wilmington/Calif.) auf folgende Weise: Das Rohöl wird zunächst in einer Glasapparatur unter Durchleiten eines inerten Gasstromes 30 sec auf 100° C erwärmt. Man erhält 7% Destillat, das in einer Oldershaw-Kolonne (theoretische Bodenzahl 20) fraktioniert wird. Die Fraktion 38—111° C (Badtemperatur 100° C) destilliert man bei 200 mm und reichert das darin enthaltene Thiophen durch fraktionierte Adsorption an Aluminiumoxyd (H—41 Alcoa, aktiviert) an. Nach wiederholten Anreicherungsschritten (ausführliches Schema im Original) werden schließlich 0,008% des ursprünglichen Rohöls erhalten, die Toluol, Benzol und neben 2% Methylthiophenen etwa 0,4% Thiophen enthalten. Zum Nachweis werden 5 ml in einer Kolonne von hoher Trennwirkung (150 Böden) in 15 Fraktionen zerlegt. Massen- und Ultrarotspektrogramme unter Heranziehung von Vergleichssubstanzen, sowie Farbreaktionen mit Isatin und Alloxan beweisen die Anwesenheit von Thiophen in Fraktion 1—9, sowie Methylthiophenen in Fraktion 2—15. K. Gassner

Über die Trennung von Porphyrinen mit der Papierchromatographie berichtet M. Blumer[2]. Der Verf. untersucht die *in geologischem Material (Sedimenten, Petroleum)* vorkommenden Porphyrine und kommt durch Verbesserung bekannter Methoden zu guten Trennergebnissen. Gemische von Isooctan mit 50—85% Tetrachlorkohlenstoff haben sich zur Trennung auf Whatman-Papier Nr. 3 besonders bewährt. Die nicht sauren Farbstoffe, die Ester und die Metallkomplexe werden gut getrennt, während die sauren Farbstoffe überhaupt nicht wandern. Sie werden auf dem Papier mit Diazomethan verestert, und man chromatographiert mit demselben Lösungsmittel rechtwinklig zur ersten Laufrichtung, worauf sich diese Ester jetzt auch gut trennen. Die mit der ersten Laufrichtung getrennten Stoffe liegen nach der zweiten Entwicklung auf der Diagonalen. Das Sichtbarmachen der Flecken erfolgt im langwelligen UV-Licht bis auf die Metallkomplexe, die nicht fluorescieren. Um sie sichtbar zu machen, imprägniert man das Papier mit Fluoranthen in n-Pentan, trocknet schnell und beobachtet unter langwelligem UV-Licht. Das Papier fluoresciert dann hell und die Flecken von Porphyrinmetallkomplexen oder freien Porphyrinen sind dunkel. Es sind noch 5×10^{-9} g freie Porphyrine und 4×10^{-8} g Metallkomplexe nachweisbar. Wenn man die Fleckgröße mit einem Standard vergleicht oder ausmißt, kann man die Menge der betreffenden Verbindung mit $\pm$ 30% bzw. $\pm$ 10% Fehler schätzen. Aus der Lage der Flecken lassen sich Schlüsse auf die Konstitution der Verbindungen ziehen. Das Verfahren ist ausführlich geschildert und mit Abbildungen und Kurven belegt. E. Müller

Zu seinem Verfahren des papierchromatographischen Nachweises von Antioxydantien[3] bemerkt K. F. Gander[4] nachträglich, daß bei Anwendung auf rohe Pflanzenöle mit Störungen durch die in den betreffenden Ölen und Fetten enthaltenen natürlichen Antioxydantien zu rechnen ist, da diese mit den verwendeten Reagentien, wie Eisen(III)-chlorid Dipyridyl und Silbernitratlösung, ebenfalls reagieren.

[1] Analyt. Chemistry **28**, 1384—1387 (1956). Bur. of Mines, Bartlesville, Okla.

[2] Analyt. Chemistry **28**, 1640—1644 (1956). Shell Development Co., Houston, Tex. (USA).

[3] Gander, K. F.: Fette u. Seifen **57**, 423 (1955); vgl. diese Z. **150**, 399 (1956).

[4] Fette u. Seifen **58**, 506 (1956). Margarine Union AG., Hamburg.

Auch die speziell zum Nachweis von Butylhydroxyanisol empfohlene Reaktion mit Dichlorchinonchlorimid fällt bei Rohölen positiv aus, selbst wenn kein Butylhydroxyanisol zugesetzt worden ist. L. Acker

Kleine Mengen Kupfer, Nickel, Zink und Mangan in pflanzlichem Material können nach J. Szurman[1] in Ammoniak-Ammoniumchloridpufferlösung als Trägerelektrolyt nebeneinander *polarographisch* bestimmt werden. Zur Beseitigung des Sauerstoffs fügt man der Lösung Natriumsulfit zu. — *Ausführung.* Man versetzt ein Lösungsgemisch von 5 ml 1 n NH_4OH + 5 ml 1 n NH_4Cl mit 2 ml frisch zubereiteter Natriumsulfit- und 2 ml 0,5%iger Gelatinelösung und fügt 5 ml der zu untersuchenden Lösung zu, die etwa 1 g Luzernenheu (Medicago sativa) entspricht. Hierauf wird in üblicher Weise polarographiert (Tropfzeit der Capillare 3,0 sec, Hg-Säulenhöhe 740 mm, Raumtemperatur 18 ± 1° C). Auf dem Polarogramm erscheinen die 4 angegebenen Metalle in deutlich getrennten Stufen. Die Identifizierung erfolgt durch Vergleich mit dem Polarogramm einer reinen Lösung der Salze. Thallium besitzt das gleiche Halbstufenpotential wie einwertiges Kupferion. Unter gegebenen Bedingungen liefert Kobalt keine polarographischen Stufen. In 0,5 m Natriumtartratlösung als Trägerelektrolyt, die man der 1 g Luzernenheu entsprechenden Menge Lösung zugibt, treten Stufen auf, die zeigen, daß auch die Möglichkeit zur Bestimmung von *Antimon* besteht. Darüber soll später berichtet werden. H. Freytag

Zur Cellulose- bzw. Rohfaserbestimmung untersucht K. Stolk[2] vier verschiedene Methoden an Filtrierpapier, Filtercellulosescheiben und an gemahlenem Heu. *Bei dem Verfahren von* A. G. Norman *und* S. H. Jenkins[3], welches in abwechselnder Einwirkung von Natriumsulfit- und neutraler und angesäuerter Natriumhypochloritlösung auf das Untersuchungsmaterial besteht, benutzt Verf. zum Filtrieren statt des in der Originalvorschrift angegebenen Baumwolltuches, wodurch beim Grasmehl Verluste an Ungelöstem auftreten, A 3-Filtertiegel. Das lästige Stoßen beim Kochen mit der Natriumsulfitlösung vermeidet man dadurch, daß man über der Flamme nur bis zum Sieden erhitzt, dann aber während 20 min in ein siedendes Wasserbad stellt. — *An der Methode von* E. W. Crampton *und* L. A. Maynard[4] ist es nachteilig, daß häufig beim Rückflußkochen der Einwaage (2 g) mit der Mischung von 80%iger Essigsäure (30 ml) und 65%iger Salpetersäure (3 ml) durch Siedeverzug und darauffolgendes Stoßen ein Teil der Substanz in den Kühler geschleudert wird, dort haften und dadurch der weiteren Kochung entzogen bleibt. Ersetzt man die Gasflamme oder elektr. Heizplatte durch ein auf 110° C gehaltenes Glycerinbad, so kocht die Mischung einwandfrei. Zum Trennen von Rückstand und Lösung wird zunächst mit etwa dem gleichen Volumen 96%igem Alkohol verdünnt und zentrifugiert. — *Die Methode von* F. J. Viles jr. *und* L. Silverman[5] beruht auf der bekannten Farbreaktion von Kohlenhydraten mit Anthron. Reproduzierbare Ergebnisse erhält man mit der üblichen Anthronlösung in 96%iger Schwefelsäure aber nur bei genauer Einhaltung der Reaktionsbedingungen, wozu u. a. die Vermischung und damit Erwärmung der (wäßrigen) Kohlenhydrat- mit der Anthronlösung gehört. Leichter reproduzierbar sind die Ergebnisse, wenn man nach dem Vorschlag des Verfassers Kohlenhydrat und Anthron in 60 volumprozentiger Schwefelsäure

[1] Roczniki Nauk rolniczych, Ser. A, **73**, 429—434 (1956) [Polnisch]. (Mit engl. Zus.fass.). WSR Olsztyn.

[2] Chem. Weekbl. **52**, 682—687 (1956) [Holländisch]. Rijkslandbouwproefstation Hoorn (Holland).

[3] Biochemic. J. **27**, 818 (1933); vgl. diese Z. **106**, 354 (1936).

[4] J. Nutrit. **15**, 383 (1938).

[5] Analyt. Chemistry **21**, 950 (1949); vgl. diese Z. **131**, 152 (1950).

auflöst, beide Lösungen vermischt und zur Farbentwicklung bestimmte Zeit in einem Wasserbad erwärmt. — *Ausführung.* 2 g Einwaage kocht man 10 min in 100 ml Wasser aus, um lösliche Kohlenhydrate zu entfernen, wäscht, trocknet und läßt über Nacht bei Zimmertemperatur in 100 ml 60%iger Schwefelsäure die Cellulose verzuckern. Von Ungelöstem (Lignin) zentrifugiert man ab und verdünnt die Lösung mit 60%iger Schwefelsäure auf einen Gehalt von 20—400 μg Zucker in 1 ml. 1 ml Hydrolysat vermischt man mit 4 ml 60%iger Schwefelsäure, 8 ml 0,16%iger Anthronlösung in 60%iger Schwefelsäure, hängt 5 min in ein Wasserbad von 95° C, kühlt in kaltem Wasser ab und mißt nach $^1/_2$ Std die Extinktion bei 625 mμ. — *Bei der Rohfaserbestimmung nach dem Weender Verfahren* arbeitete Verf. genau nach der von W. A. C. Campen[1] verbesserten Ausführungsform von F. Holdefleiss[2]. — Niemals liefern zwei Methoden in allen Fällen übereinstimmende Ergebnisse. Am häufigsten kommt man noch mit dem Weender Verfahren und mit der Methode von Crampton und Maynard zu annähernd gleichen Werten. Hiergegen fallen die Ergebnisse nach Norman und Jenkins durchweg höher, die nach Viles und Silverman bei Heu niedriger aus. Das umständliche Verfahren von Norman und Jenkins ist im Gegensatz zu den drei anderen zu Reihenanalysen weniger geeignet. F. Neumann

Ein polarographisches Verfahren zur Bestimmung von Gossypol haben A. L. Markman und S. N. Kolesov[3] entwickelt. Gossypollösungen in 96grädigem Äthanol mit 0,1 n HCl oder 0,1 n NH_4Cl als Grundelektrolyt oder in absolutem Aceton mit 0,5 n HCl geben deutliche Stufen mit den Halbstufenpotentialen $E^1/_2$ = —0,62 V, —0,79 V bzw. —0,45 V. Auch in wäßriger 0,25 n Natronlauge erhält man eine gute Stufe mit $E^1/_2$ = —1,75 V. In allen Lösungen besteht Proportionalität zwischen Stufenhöhe und Gossypolkonzentration, in den nichtwäßrigen Lösungen im Bereich 0—10 mMol Gossypol/l, in 0,25 n Natronlauge im Bereich 0—50 mMol Gossypol/l. Vor dem Polarographieren müssen die Lösungen luftfrei gemacht werden, indem man 30—40 min Wasserstoff durchleitet. Raffiniertes gossypolfreies Sonnenblumensamenöl ist polarographisch indifferent (keine Stufe) und bleibt es auch bei ½—3stündigem Erhitzen auf 80—140° C. Etwa vorhandenes Gossypol verträgt allerdings längeres Erhitzen auf 120° C und darüber nicht, die Stufen werden undeutlich. Zur Bestimmung von Gossypol in Sonnenblumenöl füllt man die Einwaage von 0,5—1,2 g mit 0,25 n Natronlauge auf 10 bzw. 25 ml auf, entlüftet, schüttelt 1 min kräftig und polarographiert. Die Resultate stimmen befriedigend mit den Ergebnissen der spektrophotometrischen Messung (im Absorptionsmaximum bei 366 mμ) und der chemischen Bestimmung (Anilin-Pyridinverfahren) überein. Die Reduktionsmethode mit Fehlingscher Lösung erweist sich als wenig zuverlässig. A. v. Wilpert

Eine colorimetrische Methode der Bestimmung von 3-Nitro-4-hydroxyphenylarsonsäure in Futtermitteln beschreibt J. W. Cavett[4]. Nach Abtrennung von Eiweiß und störenden Begleitsubstanzen photometriert man die in alkalischer Lösung intensiv gefärbte 3-Nitro-4-hydroxyphenylarsonsäure(I) bei 410 mμ und p_H 12 im Konzentrationsbereich von 0,1—2,0 mg/100 ml Meßlösung. — *Ausführung.* 5,0 g Futtermittel werden in einem 100 ml-Zentrifugenglas mit 50,0 ml 2%iger Natriumhydrogencarbonatlösung mehrmals geschüttelt. Nach 15 min zentrifugiert man und dekantiert 30 ml durch ein Filtertuch (Käsetuch) in ein

[1] Landbouwkund. Tijdschr. **61**, 785 (1949).

[2] Landwirtsch. Jb. **6**, Suppl.-Heft I, 101 (1877); vgl. diese Z. **16**, 492 (1877).

[3] Ž. prikl. Chim. **29**, 242—252 (1956) [Russisch]. Zentralasiat. Polytechn. Inst.

[4] J. Assoc. off. agric. Chemists **39**, 857—860 (1956). Dr. Salsbury's Labs., Charles City, Iowa (USA).

graduiertes 40 ml-Zentrifugenglas. Man versetzt unter Rühren mit 8—10 Tropfen konz. Salzsäure bis zum Ende der CO_2-Entwicklung und gibt dann langsam weiter unter Rühren tropfenweise Salzsäure bis zum isoelektrischen Punkt (p_H 4—5) zu (Indicatorpapier!). Eine starke Lampe, die das in einem Becherglas stehende Zentrifugenglas von hinten beleuchtet, erleichtert die Beobachtung. Falls p_H 3 erreicht wird, ohne daß Eiweiß ausflockt, setzt man weiter tropfenweise 20%ige Natronlauge bis zur Ausflockung bei p_H 5 zu. Man zentrifugiert nach einigen Minuten und dekantiert durch ein Käsetuch in einen 125 ml-Erlenmeyer-Kolben. Die klare gelbe Lösung (p_H 4—5) wird mit 4 Tropfen konz. Natronlauge auf p_H 12 gebracht und mit 2 g Aktivkohle während 30 min von Zeit zu Zeit geschüttelt. Man filtriert und behandelt das Filtrat erneut auf gleiche Weise mit 0,5 g Aktivkohle. Nach erneuter Filtration photometriert man bei 410 mμ gegen Wasser. Man eicht von 0,1—2,0 mg (I) 100 ml Meßlösung. Außer den normalerweise im Futter vorhandenen gelben Substanzen werden folgende üblichen Medikamente bei p_H 12 von Aktivkohle adsorbiert und stören daher nicht: Acetyl-(p-nitrophenyl)-sulfanilamid, Nicarbacin, Enheptin, Furazolidon, Nitrofurazon, Megasul. 4-Nitrophenylarsonsäure und Diphenyl-p-phenylendiamin stören ebenfalls nicht. Die mittlere Abweichung der Einzelbestimmung beträgt bei 50 ppm ± 7,2%, bei 100 ppm ± 5,8%.

K. Gassner

Bestimmung oberflächenaktiver Sulfate und Sulfonate. M. Doležil[1] beschreibt ein Titrationsverfahren mit Cetyltrimethylammoniumbromidlösung unter Verwendung eines Fluorescenzindicators (Eosinnatrium) zur Feststellung des Äquivalenzpunktes. Die Fluorescenz verschwindet im Endpunkt scharf, ohne daß eine Extraktion der aktiven Substanz mit organischem Lösungsmittel wie bei der Verwendung von Farbindicatoren notwendig wäre. Das Verfahren eignet sich zur Untersuchung von wasserlöslichen Sulfaten oder Sulfonaten mit Kohlenwasserstoffketten von mehr als 8 Kohlenstoffatomen. In Lösungen mit etwa 10^{-5} Mol/l oberflächenaktivem Stoff betragen die Analysenfehler maximal ± 5%. — *Ausführung.* Man löst etwa 0,25 g Probe in wenig warmem Wasser und füllt mit bidestilliertem Wasser auf 250 ml auf. Ein passender aliquoter Teil der Lösung wird mit 0,05 ml 0,2%iger wäßriger Lösung von Eosinnatrium versetzt, wenn nötig neutralisiert, mit Wasser auf 50 ml verdünnt und unter starkem magnetischem Rühren mit einer 0,001 m-Lösung von Cetyltrimethylammoniumbromid im filtrierten UV-Licht (Filter mit Durchlässigkeit bei 3650 Å) bis zum Auftreten von rotvioletter Farbe titriert. Das Titrationsende wird am schärfsten in Lösungen mit $5 \cdot 10^{-5}$ Mol/l oberflächenaktiver Substanz erkannt. Sulfonate, die in konzentrierteren Lösungen eine Eigenfluorescenz besitzen, verdünnt man bis zur Konzentration $1 \cdot 10^{-5}$ Mol/l und verwendet gegebenenfalls mehr Indicator. Stets ist ein Blindversuch auszuführen und bei der Berechnung zu berücksichtigen. Der Faktor der Maßlösung wird festgestellt durch Zugabe eines Überschusses an 0,1 n $K_2Cr_2O_7$-Lösung und jodometrische Rücktitration des unverbrauchten Chromatrestes im Filtrat.

A. Kurtenacker

4. Analyse von biologischem Material

Literatur. D. Mücke, *Einführung in mikrobiologische Bestimmungsverfahren. Quantitative Bestimmung von Aminosäuren und Vitaminen des B-Komplexes.* 138 Seiten mit 16 Abbildungen u. 38 Tabellen. Verlag G. Thieme, Leipzig 1955. Preis geb. 12,80.— DM.

[1] Chem. Listy **50**, 1588—1592 (1956) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. f. Veredelung der Erze, Prag (ČSR).

Das Buch umfaßt eine Auswahl erprobter und bewährter Methoden und gibt in vorzüglicher Weise einen Teil des Gesamtgebietes der Mikrobialanalyse wieder, deren Entwicklung und Anwendungsmöglichkeiten noch lange nicht abgeschlossen sind. Der Aufbau des Werkes ist so gestaltet, daß Abschnitte über Prinzip des Testes, über Systematik, Morphologie und Physiologie der Testorganismen, über Arbeitsmethodik einschließlich der Geräte, sowie über Auswertung der Ergebnisse dem eigentlichen analytischen Teil vorangestellt sind. Die Erwähnung mikrobiologischer Konservierungsmethoden für Testorganismen (z. B. Vakuum- und Gefriertrocknung) sowie die Darstellung präziser Arbeitsvorschriften sind dabei besonders hervorzuheben. Große Sorgfalt widmet der Autor auch der Schilderung der Reinigungsmethoden von Chemikalien, da diese Arbeitsgänge das Fundament der Mikrobialanalytik bilden. Viele Erfahrungen des Verf. werden sowohl hier als auch im eigentlichen Hauptteil eingeflochten, in welchem die Vitamine bzw. Aminosäuren ausführlich einzeln aufgeführt sind. Selbstkritisch gibt der Autor die Grenzen der Methoden an und weist auf zahlreiche Schwierigkeiten bei der Durchführung der Teste hin. Im Vordergrund steht dabei die Aufbereitung des Untersuchungsmaterials (z. B. Säurehydrolyse, enzymatische Hydrolyse), die für das Gelingen der Teste von ausschlaggebender Bedeutung ist. — Dieses Buch, von einem Praktiker für die Praxis geschrieben, wird überall dort, wo man sich mit der mikrobiologischen Analyse befaßt, eine freundliche Aufnahme finden, zumal die Aufzählung von nahezu 160 Literaturzitaten eine Erweiterung und Vertiefung ermöglicht. R. Ritter

Flammenphotometrische Natrium- und Kaliumbestimmung im Serum. H. Plagnol und M. Bredillet[1] berichten über Versuche mit dem Lange-Flammenphotometer, Modell 5/54, das mit Butan als Brenngas betrieben wird. Die zu untersuchenden Blutseren werden nicht enteiweißt. Aus den Versuchsergebnissen geht hervor, daß vor der Kaliumbestimmung rasch zentrifugiert werden muß, damit keine die K-Bestimmung verfälschende Hämolyse eintritt. Die Meßwerte können innerhalb gewisser Bereiche mit empirischen Formeln in Konzentrationsgrößen umgewandelt werden. H. Specker

Bei der Mikrobestimmung von Magnesium in biologischem Material mit 8-Hydroxychinolin nach der von J. Davidson[2] beschriebene Methode, wurden von E. J. Butler und A. C. Field[3] keine zufriedenstellenden Ergebnisse erzielt. Die Eichkurve (für 0—200 μg Mg) verlief nicht linear. Es wurde festgestellt, daß die Oxinatniederschläge stark mit Zink verunreinigt waren, obwohl sie vorschriftsmäßig mit äthanolischer Ammoniaklösung zur Entfernung der Oxinate von Zink und anderer Metalle ausgewaschen waren. Als Ursachen der Verunreinigung ließen sich der von der Laborantin verwendete Gesichtspuder, und die während des Inkubationsstadiums zum Verstopfen der Zentrifugengläser empfohlenen Gummistopfen nachweisen. Es kommen auch die verzinkten Drahtkörbe, in denen die Reagensgläser getrocknet werden, und der Messingrotor der Zentrifuge in Betracht. Um die Verunreinigungen auf ein Mindestmaß zu senken, müssen entsprechende Vorkehrungen getroffen werden. Man läßt die Zentrifugengläser während des Inkubationsstadiums unbedeckt, muß dann jedoch die Entwicklungstemperatur von 80° C auf 60—70° C senken, die Entwicklungszeit von 30 auf 90 min steigern und die Zugabe der Ammoniaklösung von 2 auf 3 ml erhöhen, um eine vollständige Magnesiumfällung zu erreichen. Unter diesen Bedingungen erhält man Eichkurven, die im Bereich von 0—150 μg dem Beerschen Gesetz folgen. K. Machner

[1] Bull. Soc. Chim. biol. **38**, 563—572 (1956). Institut Pasteur, Saigon (Süd-Vietnam).

[2] Analyst **77**, 263 (1952); vgl. diese Z. **140**, 450 (1953).

[3] Analyst **81**, 615—616 (1956). Moredun Inst., Gilmerton, Edinburgh (Großbrit.).

Zur spektralphotometrischen Bestimmung von Magnesium mit Eriochromschwarz T im Blutserum in Gehalten von 5—80 μg/ml beschreiten R. M. Levine und J. R. Cummings[1] folgenden Weg: Zu 1 ml einer frischen Serum- oder Plasmaprobe gibt man in einem 5 ml-Zentrifugenglas 2 ml Ca-Fällungsreagens (1 Vol.-Tl. gesättigte Ammoniumoxalatlösung + 1 Vol.-Tl. 1m-Natriumacetatlösung, p_H 5,0 + 3 Vol.-Tle. Wasser) und läßt das dicht verschlossene Glas über Nacht bei 4° C stehen. Danach löst man den Niederschlag durch vorsichtiges Schwenken von den Glaswänden ab, zentrifugiert dann 20 min lang in der Kälte (1200fache Erdbeschleunigung) und überführt 1 ml von der kalten überstehenden Flüssigkeit für die Magnesiumbestimmung in ein 15 ml-Zentrifugenglas. Dazu gibt man 4 ml 6,25%ige Trichloressigsäurelösung und zentrifugiert das ausgefällte Protein frühestens nach 5 min 15 min lang bei 1400 g. Zu 2 ml der überstehenden Flüssigkeit gibt man in einem 10 ml-Meßkolben 3 ml Piperidinpufferlösung (p_H 12,0—12,2; man versetzt die Lösung von 15,6 ml Piperidin in 70 ml Wasser mit 1,5 ml konz. Salzsäure und verdünnt mit Wasser auf 100 ml), ferner 3 ml 95%iges Äthanol und 1 ml Farbstofflösung (10 mg Eriochromschwarz T werden mit 1,5 ml Wasser in einen 25 ml-Meßkolben übergeführt, nach Zusatz von 0,1 ml Piperidinpufferlösung mit destilliertem 95%igen Äthanol bis zur Marke verdünnt und dann in einer braunen Flasche 30 min lang geschüttelt). Man läßt die Mischung nach kräftigem Schütteln 30 min im Dunkeln stehen. Gleichzeitig mit der Analysenlösung stellt man eine Blind- und eine Standardlösung her. Die Extinktionen der Analysen- und Standardproben werden gegen die der Blindprobe bei 520 mμ gemessen. Die Verff. benutzen ein Beckman-Spektralphotometer Modell DU. Die Eichkurve ist bis zu Gehalten von 40 μg Mg/ml der Probenlösungen linear. — Die Messungen werden durch Kalium und Natrium sowie durch die im Probenmaterial zu erwartenden Eisengehalte nicht gestört. Die Extinktionen bleiben etwa 60 min lang konstant, sofern das Reagens mindestens 30 min und nicht mehr als 90 min alt ist. Die Temperatur ist im Bereich von 20,5—37,5° C ohne Einfluß. Der p_H-Wert der Endlösung muß bei 11,4—11,5 liegen. Die Meßfehler sind im allgemeinen nicht größer als $\pm$ 3%. Oxalationen vermindern die Extinktionen, deshalb sind die Standardbedingungen genau einzuhalten. Größere Fehler treten bei unvollständiger Calciumfällung, z. B. in der Wärme auf. H. Specker

Die Bestimmung von Calcium im Blutserum mit Titriplex III (Dinatriumdihydrogen-äthylendiamin-tetraacetat) und Indicator-Puffertabletten wird von A. Steber[2] mit einigen Abweichungen nach einer bereits von Schütte[3] angegebenen Methode durchgeführt. *Die Indicator-Puffertabletten „Merck"* enthalten neben einer Puffersubstanz und dem Zink-Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure Eriochromschwarz T und einen gelben Azofarbstoff. Sie geben einen besonders scharfen Farbumschlag. — *Ausführung.* Man versetzt 2,00 ml Serum in einem Zentrifugenglas mit 5—6 ml bidest. Wasser und 2 ml gesättigter Natriumoxalatlösung, läßt 6—12 Std stehen und zentrifugiert anschließend. Das Zentrifugat wird dekantiert. Man löst den Niederschlag in 1 ml 1 n-Salzsäure, gibt $^1/_4$ gepulverte Indicator-Puffertablette, 2 ml 10%ige NH_3-Lösung (die Titration soll im p_H-Bereich 10—11 erfolgen) und 5 ml bidest. Wasser zu und titriert sofort mit 0,001 m Titriplex-III-lösung bis zum Farbumschlag des Indicators nach einem leicht graustichigen Grün. Im Zweifelsfalle stellt man sich eine Vergleichslösung mit den angegebenen Reagensmengen her. Der Titer nicht frisch bereiteter 0,001 m Titriplex-III-Lösungen wird

[1] J. biol. Chemistry **221**, 735—742 (1956). Tufts Univ. School of Medicine, Boston, Massachusetts (USA).

[2] Med. Klin. **1956**, 2083—2085. Univ.-Kinderklinik, Wien.

[3] Med.-chem. Untersuchungsmethoden, Hgb: E. Merck, Darmstadt (1954).

mit dem 1:200 verdünnten Reagens nach Weltmann (Merck) nach dem beschriebenen Verfahren eingestellt. Berechnung: Verbrauchte Milliliter 0,001 m Maßlösung × 2 = mg-% Ca (bei Verwendung von 2 ml Serum). Nach den mitgeteilten Versuchsergebnissen läßt sich bei Doppelbestimmungen des Serum-Calciumspiegels nach der Titriplex-Methode eine für klinische Belange vollauf befriedigende Übereinstimmung der Ergebnisse erzielen. K. Machner

Die Mikrobestimmung des Quecksilbers in biologischen Materialien erfordert es, daß die Zerstörung der organischen Substanz einerseits vorsichtig geschieht, um Hg-Verluste durch Verflüchtigung zu vermeiden, und daß sie andererseits vollständig ist, damit sich nicht ein Teil des Quecksilbers in organischer Bindung der Bestimmung entzieht. Außerdem ist es bei der Dithizonmethode zweckmäßig, durch eine Vorextraktion das Quecksilber von störendem Kupfer zu trennen. Um diese Ziele zu erreichen, modifiziert F. R. Barrett[1] die Aufschlußmethode von J. Cholak und D. M. Hubbard[2] und die Extraktion nach E. P. Laug und K. W. Nelson[3]. — *Ausführung.* Je nach dem voraussichtlichen Hg-Gehalt läßt man 1—20 g Organgewebe mit 8—30 ml einer Mischung von konz. Schwefelsäure und konz. Salpetersäure (1 : 1 Vol.) bis das Schäumen aufhört und dann noch 2 Std weiter unter Rückfluß leicht sieden, kühlt, filtriert etwa vorhandenes Fett durch Glaswolle ab, wäscht mit 4 ml verdünnter Schwefelsäure (1 : 3) nach, fügt festes Kaliumpermanganat in 0,5 g-Portionen (Tabletten) hinzu und erwärmt danach jedesmal bis zur Entfärbung, bis zuletzt ein Rest von Mangandioxyd auch beim Sieden (Rückfluß) übrigbleibt. Man verdünnt nun mit 50—100 ml Wasser und gibt wieder portionsweise Kaliumpermanganat dazu, bis auch dessen Farbe beim Sieden bestehen bleibt. Nach dem Abkühlen entfärbt man mit 50%iger Hydroxylammoniumchloridlösung und verdünnt auf 150—400 ml (je nach der angewandten Säuremenge). Ein höchstens 8 μg Hg enthaltendes Volumen extrahiert man zweimal mit je 10 ml Dithizonlösung (6 mg in 1000 ml Chloroform), wäscht die vereinigten Extrakte mit 50 ml 0,25 n Schwefelsäure und schüttelt mit 50 ml frischer 0,25 n Schwefelsäure unter Zusatz von 10 ml Kaliumbromidlösung (40 g/100 ml) durch, wobei allein das Quecksilber (als K_2HgBr_4) in die wäßrige Schicht übergeht. Diese versetzt man bis zum p_H-Wert von etwa 6 mit Pufferlösung (150 g Dinatriumhydrogenphosphat und 38 g trockenes Kaliumcarbonat im Liter), extrahiert das Quecksilber mit 10 ml Dithizonlösung, filtriert den Extrakt durch Baumwolle und mißt die Absorption bei 490 mμ. — Bei mehr als 8 μg Hg ist die Erfassung unter den angegebenen Extraktionsbedingungen unvollständig. F. Neumann

J. Cholak und D. M. Hubbard[4] beschreiben in Fortführung und Erweiterung einer früheren Arbeit[5] *die photometrische Mikrobestimmung von Quecksilber in biologischem Material (Blut, Urin, Gewebe) und in Luft* mit Hilfe von *Di-2-naphthylthiocarbazon*, dessen Hg-Komplex stabiler als der entsprechende Dithizonkomplex ist. Die organische Substanz wird in einer Spezialapparatur (Abb. im Original) aufgeschlossen, indem man mit einem Gemisch von konz. Salpeter- und Schwefelsäure kocht und dies nach Zusatz von $KMnO_4$ wiederholt. Das in Luftproben enthaltene Quecksilber absorbiert man in einer schwefelsauren $KMnO_4$-Lösung. Die Lösungen werden jeweils mit Hydroxylaminhydrochloridlösung entfärbt und dann wird das Quecksilber zusammen mit etwa vorhandenem Kupfer mit einer Lösung von Di-2-naphthylthiocarbazon in Chloroform extrahiert. Durch Behandlung mit

[1] Analyst **81**, 294—298 (1956). Univ. Sidney (Australien).
[2] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 149 (1946).
[3] J. Assoc. off. agric. Chemists **25**, 399 (1942).
[4] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 149–151 (1946); Univ. Cincinnati, Ohio.
[5] Hubbard, D. M.: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **12**, 768 (1940).

einer schwefelsauren $Na_2S_2O_3$-Lösung überführt man das Quecksilber in die wäßrige Phase, während Kupfer in der Chloroformlösung verbleibt. Nun zerstört man den Quecksilberthiosulfatkomplex durch Erhitzen mit $KMnO_4$-Lösung, entfärbt mit Hydroxylaminhydrochloridlösung, extrahiert das Quecksilber mit Di-2-naphthylthiocarbazonlösung in Chloroform und führt den Extrakt der photometrischen Bestimmung zu. Die angeführten Beleganalysen zeigen bis hinab zu 10^{-5}% Hg im Blut gute Übereinstimmung mit den theoretischen Werten. — Das für dieses Verfahren verwendete *Di-2-naphthylthiocarbazon*, das von I. B. Suprunovich[1] sowie später von D. M. Hubbard und E. W. Scott[2] dargestellt wurde, muß sehr rein sein. D. M. Hubbard[3] gibt daher in einer neuen Arbeit eine *Methode zur Reinigung* an, die der früher beschriebenen[2] überlegen sein soll. Danach löst man die Substanz in gereinigtem Chloroform, verdampft das Chloroform zum großen Teil, nimmt den Rest in Äthanol auf, kühlt mit Aceton-Trockeneisgemisch, filtriert, wäscht mit Äthanol und läßt an der Luft trocknen. Die Ausbeute beträgt etwa 60%. F. Schärtl

Zur Mikrobestimmung von Phosphor in biologischem Material (Blut, Plasma, Serum, Urin) verwenden P. S. Chen jr., T. Y. Toribara und H. Warner[4] die von R. Ammon und K. Hinsberg[5] angegebene Methode (Reduktion der komplexen Phosphormolybdatverbindung mit Ascorbinsäure), die später von Lowry und Mitarbeitern[6] verbessert wurde. — *Ausführung.* Die vorbereitete Probe mit einem Phosphorgehalt bis zu 8 μg wird in einem Zentrifugenglas mit Wasser auf 4 ml verdünnt. Es werden 4 ml einer täglich frisch bereiteten Reagenslösung zugefügt [6 n Schwefelsäure/Wasser/2,5%ige Ammoniummolybdatlösung/10%ige Ascorbinsäurelösung (1:2:1:1)]. Man schüttelt gut durch, läßt das Reaktionsgemisch 1,5 –2 Std bei 37° C stehen, kühlt auf Raumtemperatur ab und mißt die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung bei 820 mμ. Eine Blindwertbestimmung wird durchgeführt. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. — Vorbereiten der Proben: Zur Bestimmung von Phosphor im Urin wird die Probe mit Wasser oder verdünnter Salzsäure (falls der Urin getrübt ist) entsprechend verdünnt. Anorganischer Phosphor: 0,5 ml Blut, Plasma oder Serum werden mit 2 ml 10%iger Trichloressigsäure kräftig geschüttelt. Anschließend wird zentrifugiert. Zur weiteren Analyse werden 0,5 ml des Filtrats verwendet. Zur Bestimmung von säurelöslichem Phosphor werden die Trichloressigsäurefiltrate nach dem unten angegebenen Verfahren verascht. Lipoidphosphor: Man erhitzt 0,5 ml der Probe mit 9,5 ml Alkohol/Äther (3:1) auf einem Wasserbad (80° C), bis das Reaktionsgemisch zu sieden beginnt, kühlt ab, verdünnt mit Alkohol/Äther auf 10 ml und verascht 5 ml der überstehenden Flüssigkeit wie unten angegeben. Zur Bestimmung von Gesamtphosphor in biologischem Material wird die Probe in einem Reagensglas (20 × 150 mm) mit 4 Tropfen konz. Schwefelsäure verascht (Blutproben werden mit einem Gemisch aus 4 Tropfen konz. Schwefelsäure und 2,0 ml konz. Salpetersäure aufgeschlossen). Man erhitzt auf einem Sandbad bis zum Auftreten weißer Schwefelsäuredämpfe, gibt 2 Tropfen 72%ige Perchlorsäure (oder Perhydrol) zu, erhitzt weiter, bis die Flüssigkeit klar wird, kühlt ab, spült in einen 25 ml-Meßkolben über und füllt mit Wasser zur Marke auf. — Nach den mitgeteilten Analysenzahlen beträgt die Genauigkeit der Methode ± 2%. K. Machner

[1] Ž. obšč. Chim. **8**, 839 (1938).
[2] J. Amer. chem. Soc. **65**, 2390 (1943).
[3] Analyt. Chemistry **28**, 1802 (1956). Univ. Cincinnati, Ohio (USA).
[4] Analyt. Chemistry **28**, 1756—1758 (1956). Univ. Rochester, N.Y. (USA).
[5] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **239**, 207 (1936); vgl. diese Z. **111**, 31 (1937/38).
[6] Lowry, O. H., N. R. Roberts, K. Y. Leiner, M. L. Wu und A. L. Farr: J. biol. Chemistry **207**, 1 (1954).

Auftreten von Schwefelwasserstoff in Bakterienkulturen. Um den Schwefelwasserstoff empfindlicher als mit Bleipapier nachzuweisen, empfiehlt A. B. Černomordik[1] die Herstellung eines Eisenammoniumcitrat-Mediums: Man vermischt 15 g Pepton, 1 g Eisenammoniumcitrat, 1 g K_2HPO_4, 0,15 g Thiosulfat und 5 g Agar, löst die Stoffe in 1 Liter siedendem Wasser, verteilt die Lösung auf eine Anzahl Reagensgläser und sterilisiert sie im Autoklaven bei 0,5—1Atm. Bei der Aussaat durch Einstich in ein solches Säulchen wird die Entwicklung von H_2S durch eine Schwärzung der Einstichlinie angezeigt. Von 160 Stämmen von „Blau-Eiter-Bakterien" lieferten 112 die Reaktion, während 48 keine Schwärzung aufwiesen. Die Reaktion ist empfindlicher als jene mit Pb-Acetatpapier (Zusatz von Pb-Acetat zu Agar gibt mit H_2S gleichfalls eine Schwärzung). A. v. Wilpert

Zur Bestimmung von proteingebundenem Jod in minimalen Mengen Blutserum oder -plasma empfiehlt J. Fischl[2] die Anwendung der Katalyse der Reaktion zwischen Cer(IV)-ionen und arseniger Säure in einer verbesserten Form. Die Katalyse wird durch Zugabe von Brucin[3] zum Stillstand gebracht, so daß die photometrischen Messungen (bei 540 mμ) nicht mehr in genau festgelegten Zeitintervallen erfolgen müssen. Durch die Zugabe von Brucin wird außerdem die Intensität der Farbreaktion stark erhöht (Bildung eines Brucin-Ceriumkomplexes), so daß man auch für genaue Bestimmungen mit sehr kleinen Mengen Serum (0,02—0,1 ml) auskommt. — *Arbeitsweise.* 0,1 ml der Probe werden in einem Zentrifugenglas (Quarz oder Pyrex, 20×160 mm) mit 0,5 ml Wasser versetzt. Man fügt langsam 2,5 ml 10%ige Perchlorsäure hinzu, zentrifugiert 5 min bei hoher Umlaufgeschwindigkeit, gießt die überstehende Flüssigkeit ab, suspendiert den Niederschlag in 2,5 ml 10%iger Perchlorsäure, zentrifugiert erneut und verwirft die überstehende Flüssigkeit. Der Rückstand wird mit 0,2 ml 4 n Na_2CO_3-Lösung behandelt. Man mischt gut durch, verdampft bei 90—98° C zur Trockne, erhitzt anschließend erst 30 min bei 450—500° C, danach 12—16 min bei 650° C (Muffelofen), läßt abkühlen und gibt zum Rückstand 0,5 ml 50%ige Schwefelsäure und 0,5 ml Wasser. (An Stelle der alkalischen Veraschung kann auch ein Chlorsäureaufschluß durchgeführt werden. Einzelheiten in der Durchführung sind der Originalarbeit zu entnehmen.) Die erhaltene Lösung wird mit 1 ml arseniger Säure versetzt (man löst 9,9 g As_2O_3 und 7 g NaOH in 100 ml Wasser, verdünnt auf etwa 400 ml, neutralisiert mit konz. Schwefelsäure gegen Phenolphthalein als Indicator, gibt 2,5 g NaCl und 42 ml konz. Schwefelsäure zu und verdünnt mit Wasser auf 1000 ml). Man läßt 10 min bei 28—30° C stehen, fügt dann 0,5 ml 0,04 n Cer(IV)-lösung hinzu (25,31 g $(NH_4)_4Ce(SO_4)_4 \cdot 2\,H_2O$ und 103 ml konz. H_2SO_4 werden in 700 ml Wasser gelöst. Man läßt über Nacht stehen und verdünnt anschließend auf 1000 ml), mischt gut durch, läßt das Reaktionsgemisch weiter bei 28—30° C stehen und gibt genau 20 min nach Zugabe der Cer(IV)-salzlösung 0,5 ml Brucinacetatlösung hinzu (5 g Brucin werden in 3 ml Eisessig gelöst und mit Wasser auf 1000 ml verdünnt). Nach dem Auffüllen mit Wasser auf 5 ml erhitzt man 5 min im siedenden Wasserbad, kühlt ab, zentrifugiert und bestimmt die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung bei 540 mμ gegen Wasser als Vergleichslösung. Eine Blindwertbestimmung wird durchgeführt. Zum Aufstellen der Eichkurve wird eine Stammlösung angesetzt, die 100 μg Jod/ml enthält (168,5 mg KJO_3 werden in Wasser gelöst und auf 1000 ml verdünnt). Aliquote Teile der entsprechend verdünnten

[1] Laborat. Delo **1956**, H. 5, 27 [Russisch]. Inst. Epidemiol., Mikrobiol., Hyg. Dnjepropetrowsk (UdSSR).

[2] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **1**, 462—469 (1956). Malben Hospital, Beer Yaacov (Israel).

[3] Šemjakin, F. M., V. A. Volkova und A. S. Božko: J. gen. Chem. [Russisch] **8**, 452 (1938).

Stammlösung werden in der beschriebenen Weise analysiert. Im Bereich von 0 bis 0,025 μg Jod folgt die Kurve dem Beerschen Gesetz. Es ist auf besonderen Reinheitsgrad der verwendeten Reagentien zu achten. Zum Ansetzen der einzelnen Lösungen wie auch während der Analyse soll nur bidest. Wasser verwendet werden.

K. Machner

Über die photometrische Bestimmung von zwei Azotrijodthyroninen in verschiedenem Milieu berichten G. Barac und O. Quadens[1]. Es werden die optimalen Bedingungen zur Bestimmung von *5'-(1-Azo-4-sulfophenyl)-3,5,3'-trijodthyronin* und *5'-(1-Azo-4-arsenophenyl)-3,5,3'-trijodthyronin* in Wasser, (Heparin-)Plasma und Harn ermittelt. Die Thyronine werden erst in 0,5 ml 1 n Natronlauge gelöst und dann werden unter Verwendung von Pufferlösungen die Lösungen in den 3 Medien hergestellt. Man mißt bei 480 mμ, dann sind die Absorptionswerte zwischen p_H 5,8 und 7,0 praktisch gleich. Die Empfindlichkeitsgrenze liegt bei 3 mg/100.

E. Müller, Würzburg

Die Bestimmung der Linol-, Linolen- und Arachidonsäure, insbesondere im Blut, führt man nach F. Corsini[2] durch Extraktion des Serums mit Bloorschem Gemisch (3 Vol-T. absol. Äthylalkohol + 1 Vol-T. Äther), Verseifung des Fettes, Freisetzen der Fettsäuren, Isomerisation eines Teils der Fettsäuren und Photometrie ihrer Lösungen bei 234, 268 und 316 mμ aus. Interessant ist die Tatsache, daß viele Humanseren *negative* Linolensäure-Werte liefern. Dies beruht wahrscheinlich zunächst darauf, daß von dieser Säure immer nur sehr wenig vorhanden ist, doch scheint es noch weitere bisher unbekannte Einflüsse zu geben, die die Extinktion ungesättigter Fettsäuren mit mehr als vier Doppelbindungen und die Absorptionskoeffizienten auf die Gesamtextinktion ausüben. Auch die Isomerisation kann unregelmäßig verlaufen. — *Ausführung.* 2 ml Blutserum extrahiert man 15 min lang mit 50 ml Bloorschem Gemisch auf dem Wasserbad unter Rückfluß. Dann filtriert man in einen anderen Kolben mit 2 × 10 ml Bloorschem Gemisch. Zum Filtrat fügt man 2 ml 10%ige Kalilauge, schüttelt und verseift unter Rückfluß auf dem Wasserbad. Hierauf verjagt man den gesamten Alkohol und Äther im Vakuum in der Wärme. Zum Rückstand gibt man 2 ml dest. Wasser und 4 ml 12%ige Schwefelsäure, überträgt in einen Scheidetrichter und schüttelt je 2 min lang mit je 50 ml Äther aus. Die vereinten Extrakte wäscht man zweimal mit je 100 ml Wasser und trocknet den Extrakt mit etwa 10 g entwässertem Natriumsulfat, worauf man ihn in einem 50 ml-Meßkolben bis zur Marke einengt und im Eisschrank aufbewahrt. 40 ml des ätherischen Extraktes dampft man in 10 ml-Anteilen in einem alkalibeständigen Reagensglas (16 × 160 mm) ein und versetzt mit 0,35 ml Isomerisationsreagens (7,5 g Kaliumhydroxyd in 100 ml spektrophotometrisch reinem Äthylenglykol gelöst und im Phosphorsäurebad 10 min bei 190° C erhitzt). Man erhitzt 30 min lang in einem Phosphorsäurebad von 180° C. Gleichzeitig behandelt man ebenso eine aus dem reinen Isomerisationsreagens bestehende Blindprobe. Den Inhalt jedes Reagensglases verdünnt man im 25 ml-Meßkolben mit spektrophotometrisch reinem absolutem Äthanol zur Marke und photometriert bei den erwähnten Wellenlängen. Zur Messung bei 234 mμ verdünnt man noch auf das 4—5fache mit absolutem Äthanol. Den Rest von 10 ml der obigen Stammlösung bringt man zur Trockne, löst ihn in 10 ml absolutem Äthanol und spektrophotometriert wie vorhin. Zur Berechnung verwendet man die Meßwerte der Blindprobe (Isomerisationsreagens), die der isomerisierten und nichtisomerisierten Fettsäurelösungen und die von B. W. Beadle und H. R. Kraybill[3] bestimmten Absorp-

---

[1] Bull. Soc. Chim. biol. **38**, 1055—1062 (1956). Univ. Lüttich (Belgien).

[2] Acta vitaminol. (Milano) **10**, 64—69 (1956). Univ. Bologna (Italien).

[3] J. Amer. chem. Soc. **66**, 1932 (1944).

tionskoeffizienten: für Linolsäure 86,0 (234 mμ), Linolensäure 60,9 (234 mμ) und 53,2 (268 mμ) und für Arachidonsäure 59,3 (234 mμ), 53,4 (268 mμ) sowie 22,6 (316 mμ). H. Freytag

Die chromatographische Trennung von Phospholipoiden wird von D. N. Rhodes[1] beschrieben. Unter Angabe der entsprechenden Literatur schildert der Verf. zunächst die Anwendung von Ionenaustauschern sowie der Verteilungs- als auch der Adsorptionschromatographie. Mit Erfolg ist die Trennung von Eiphospholipoiden in cholinhaltige und cholinfreie Fraktionen durchgeführt worden. Die Phospholipoide werden aus 10%iger Lösung in Chloroform-Methanol (1 : 1) mit Hilfe einer Al_2O_3-Säule getrennt. Für 2 g Substanz sind 40 g Al_2O_3 notwendig. Die Cholinlipoide werden nicht adsorbiert. Das Kephalin läßt sich schnell mit einem Äthanol-Chloroform-Wassergemisch (5 : 2 : 2) eluieren. Die Ausbeute beträgt 92–98%. H. Kathen

Über die Anwendung der Gegenstromverteilung auf die Phospholipoidchemie berichtet J. Olley[2] an Hand von 86 Literaturzitaten. Dabei werden ausführlich die Lösungsmittelsysteme, die Faktoren, die den Verteilungsquotienten beeinflussen, sowie der Einfluß der Anfangskonzentration auf das Verteilungsverhältnis und die Anwendung der Gegenstromverteilung zur Identifizierung und Reinigung der Hydrolyseprodukte von Phospholipoiden besprochen. In einer Tabelle ist die Verteilung bekannter Phospholipoidklassen angegeben, in einer weiteren sind neue Lipoide, die mit Hilfe der Gegenstromverteilung identifiziert worden sind, mitgeteilt. Auch finden solche Substanzen, die die Phospholipoide verunreinigen, sowie labile Lipoide und Lipoidfragmente Erwähnung. Zuletzt wird die Trennung von Phospholipoiden, die spezielle Funktionen besitzen, genannt. H. Kathen

Zur spektrophotometrischen Mikrobestimmung von Cholin modifiziert D. J. Kushner[3] die Perjodid-Methode von Appleton u. Mitarb.[4]. Der aus Cholin und Jod gebildete Niederschlag wird nun nicht mehr durch Zentrifugieren abgetrennt, sondern zusammen mit dem überschüssigen Jod, gelöst in Äthylendichlorid, bei 365 mμ photometriert. Infolge der höheren molaren Extinktion des Perjodids gegenüber dem freien Jod ist nach Abzug des Reagentienleerwertes die Extinktion der eingesetzten Cholinmenge proportional. Man löst das Cholin (bis 50 μg) in 2,0 ml Wasser, fügt 1 ml Jodreagens zu (2,5 g Jod und 3,1 g KJ gelöst in 250 ml Wasser), schüttelt gut durch und beläßt 20 min in einem Eisbad. Dann werden 10 ml Äthylendichlorid (destilliert über Zinkstaub und NaOH) zugegeben und die beiden Phasen 30 sec lang mittels eines durchperlenden N_2-Stromes gemischt. Nach dem Absaugen der oberen Schicht wird die organische Phase genau 2 min nach Zugabe des Äthylendichlorids bei 365 mμ gemessen. Folgende Verbindungen stören in Mengen bis 100 μg nicht: DL-Alanin, L-Arginin, L-Asparaginsäure, L-Cystein, L-Cystin, Glycin, L-Histidin, DL-Isoleucin, DL-Leucin, DL-Lysin, DL-Methionin, L-Phenylalanin, L-Prolin, DL-Serin, DL-Threonin, L-Tyrosin, DL-Valin, Äthanolamin, Histamin, D-Glucosamin, Diphenylamin, Adenosin, L-Asparagin, L-Glutamin und Glycylglycin. Äquimolare Mengen von Acetylcholin, Acetyl-β-methylcholin und Tryptophan geben 80%, 40% bzw. 10% der Cholin-

[1] Chem. and Ind. **1956**, 1010—1013. Low Temperature Station f. Res. in Biochem. and Biophysics, Cambridge (England).

[2] Chem. and Ind. **1956**, 1120—1130. Food Invest. Organis., Aberdeen (Großbrit.).

[3] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **20**, 554—555 (1956). Forest Insect Lab., Sault Ste. Marie, Ontario (Canada).

[4] Appleton, H. D., B. N. la Du, jr., B. B. Levy, J. M. Steele u. B. B. Brodie: J. biol. Chemistry **205**, 803 (1953); vgl. diese **Z. 146**, 378 (1955).

extinktion. Phosphorylcholin reagiert nicht. Die Methode ist geeignet zur Cholinbestimmung in Hydrolysaten von gemischten Phospholipoiden und zur Verfolgung der enzymatischen Hydrolyse von Phosphorylcholin durch rohe Samenphosphatase. H. Pelzer

Zum Nachweis, zur Bestimmung und zur Identifizierung von Barbitursäurederivaten in biologischem Material kann nach P. M. G. Broughton[1] die unterschiedliche Absorption im UV-Gebiet bei verschiedenen p_H-Werten dienen. — *Arbeitsvorschrift.* Etwa 5—10 ml *Vollblut* werden dreimal mit etwa 30 ml Chloroform geschüttelt und die vereinigten Extrakte filtriert. Dieser Extrakt wird dann mit 5 ml 0,45 n Natronlauge reextrahiert und zentrifugiert. Zu je 2 ml dieses Extraktes gibt man einmal 2 ml 0,45 n NaOH-Lösung, zu der anderen Probe 2 ml 0,6 m H_3BO_3-KCl-Lösung und mißt die Absorption beider Lösungen von 227—265 mμ gegen die entsprechenden Blindlösungen. Für den qualitativen Nachweis bestimmt man die Lage der Maxima der alkalischen Lösung (252—255 mμ), der Boratlösung (238 bis 240 mμ) und die isosbestischen Punkte (227—230 mμ und 247—250 mμ). Zur quantitativen Berechnung wird folgende Gleichung herangezogen:

$$c\,[\mu g/ml] = (E_N - E_B)\,/(K_N - K_B).$$

Darin bedeuten K_N und K_B die spezifischen Extinktionskoeffizienten der Barbitursäurederivate in natronalkalischer bzw. Borat-Lösung bei 260 mμ, E_N und E_B die gemessenen Extinktionen der betreffenden Lösungen bei 260 mμ. Zur Unterscheidung der einzelnen Derivate kann man die unterschiedlichen Hydrolysengeschwindigkeiten heranziehen. Dazu werden die alkalischen Auszüge 15 min auf dem siedenden Wasserbad erhitzt und die Abnahme der Extinktion wird mit den nicht-erhitzten Proben verglichen. So ist z. B. das Phenyl-Äthylderivat nach 15 min zu 62,2% hydrolysiert, das Äthyl-1-Methylbutylderivat nur zu 1,8%. Sulfonamide und Salicylsäure stören die Bestimmungen; sie können aber durch zweimaliges Ausschütteln des Chloroformextraktes mit Phosphatpuffer entfernt werden. H. Specker

Aminosäuren. *Über die quantitative Mikrobestimmung von Aminosäuren als Dinitrophenylderivate zur Untersuchung der Verdaulichkeit hoch erhitzter Milch* berichten R. Schober, I. Prinz und W. Christ[2]. Nach Verfüttern von hocherhitzter und zum Vergleich nicht erhitzter entfetteter Milch an Hunde werden die Aminosäuren im Pfortaderblut bestimmt. Nach bekannten Verfahren (ohne Literaturangabe) werden die Aminosäuren in die DNP-Derivate verwandelt, papierchromatographisch zweidimensional getrennt, eluiert und photometriert. Bis auf Lysin, das geringe Verminderung zeigt, bestehen keine Unterschiede. Die Ergebnisse einschließlich Korrekturfaktoren sind in Tabellen zusammengestellt.

Über die polychrome Sichtbarmachung von Aminosäuren auf Papierchromatogrammen und -elektropherogrammen berichten J. Barrollier, J. Heilman und E. Watzke[3]. Als Reagentien dienen *Isatin* (I) oder *Folins Reagens* (1,2-naphthochinon-4-sulfonsaures Natrium) (II), deren Anfärbung durch Zusatz von Zinkacetat verbessert wird. — *Isatinreagens.* Das Reagens wird essigsauer oder pyridinalkalisch angesetzt: a) 1 g Isatin, 1,5 g Zinkacetat, 1 ml Pyridin, 100 ml Isopropylalkohol; b) 1 g Isatin, 1,5 g Zinkacetat, 1 ml Eisessig, 95 ml Isopropylalkohol, 5 ml Wasser. Um Isatin und Zinkacetat zu lösen, erwärmt man auf dem Wasserbad auf 70—80° C und kühlt schnell unter fließendem Wasser. Das durch das Reagens gezogene Chromatogramm trocknet man entweder 30 min bei 80—85° C oder

[1] Biochemic. J. **63**, 207—213 (1956). Radcliffe Infirmary, Oxford (England).

[2] Milchwissenschaft **11**, 209—210 (1956). Milchwissenschaftl. Lehr- u. Forsch.-Anst., Wangen/Allgäu.

[3] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **304**, 21—25 (1956). Schering A. G., Berlin.

20 Std bei Zimmertemperatur, wobei alle Aminosäuren Farben (rot, violett, blau) entwickeln. Wegen der praktischen Unlöslichkeit des Farbstoffes wässert man kurz zur Beseitigung des Isatinüberschusses und erhält einen fast weißen Untergrund. Das Pyridinreagens gibt ein besonders reiches Farbspiel; es neigt zum Verblassen; mit ihm lassen sich 10^{-7} Mol Aminosäure/cm² sichtbar machen. Das essigsaure Reagens erzeugt weniger Mannigfaltigkeit, aber größere Intensität und Haltbarkeit der Farben, hier sind noch $3 \cdot 10^{-8}$ Mol Aminosäure/cm² nachweisbar. Zieht man die Chromatogramme durch eine mit gleichem Volumen Chloroform versetzte Herbopanlackmischung[1], läßt abtropfen und trocknen, so erhöhen sich Brillanz und Haltbarkeit der Farben. Derart stellt man sich am besten Test-Farbbögen her. *Folins Reagens.* Man löst 0,5 g Zinkacetat und 0,125 g 1,2-naphthochinon-4-sulfonsaures Natrium (muß meist aus 50%igem Alkohol unter Zusatz von etwas Aktivkohle umkristallisiert werden, da alte Präparate oft Zersetzungsprodukte enthalten) in 10 ml Wasser, gibt 0,125 ml Chinolin und anschließend unter Schwenken 90 ml sek.-Butanol zu und filtriert nach 5 min. Die Lösung muß vor Gebrauch frisch angesetzt werden. Das Chromatogramm wird durch die Lösung gezogen und 1 Std bei Raumtemperatur hängen gelassen. Die Farben entwickeln sich ziemlich schnell. Der Reagensüberschuß wird mit einer Lösung von 20% Zinkacetat in 95%igem Alkohol ausgewaschen. Je nach der Art lassen sich 10^{-6} bis $3 \cdot 10^{-8}$ Mol Aminosäure/cm² (Papier Sch. & Sch. 2045aM) nachweisen. Bei Konzentrationen $> 10^{-6}$ Mol/cm² geben reduzierende Substanzen wie Cystein, Glutathion oder Glucosamin mit beiden Reagentien nur am Rand Färbung, da es im Fleckzentrum zur Reduktion kommt.

E. Müller, Würzburg

L. B. Rockland und J. C. Underwood[2] wandeln die von L. B. Rockland und M. S. Dunn[3] beschriebene Methode *zur Bestimmung von Aminosäuren durch direktes Photometrieren der Papierchromatogramme* so ab, daß es ihnen gelingt, in einem Trog 40 verschiedene schmale Filterpapierstreifen (2,7×21,5 cm, Schl. & Sch. Nr. 507) so zu behandeln, daß in 24 Std die 7 Aminosäuren *Alanin, Serin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Arginin, Prolin und γ-Aminobuttersäure* (aus dem Saft der California Valencia- und Washington Navel-Orangen) getrennt werden können. Die Entwicklung wird mit 3 Lösungsmittelgemischen durchgeführt: A. 100 ml 2,4,6-Collidin, 100 ml 2,4-Lutidin, 92,3 ml Wasser (gemischt bei 24° C), B. Phenol/Ammoniak/Wasser, wie früher beschrieben[4] und C. tert.-Butanol/Ameisensäure/Wasser (69,5 : 1 : 29,5). Zur Sichtbarmachung der Flecken wird eine 0,5%ige Lösung von Ninhydrin (für Prolin eine 0,5%ige Lösung von Isatin) in einer Mischung aus 10,0 ml Essigsäure, 20 ml Pyridin, 30 ml Methylcellosolve und 40 ml tert.-Butanol verwendet. Die integrale Durchlässigkeit der einzelnen Farbflecken wird unter Verwendung eines ausführlich beschriebenen Probenhalters mit einem Lumetronphotometer, Modell 402 FF ermittelt. — *Probenvorbereitung.* Pectin und unlösliche Bestandteile werden aus dem Orangensaft mit Hilfe von Aceton (60 ml auf 50 ml Saft) entfernt. Der gefilterte, klare Extrakt wird eingeengt und schließlich im Hochvakuum auf 15 ml gebracht. In einem Maßkolben wird danach mit dest. Wasser auf 20 ml aufgefüllt. — *Chromatographie.* Auf jeden Streifen werden in der Mitte, 2 cm vom unteren Rand entfernt, 5×10^{-5} ml aufgetragen (zur befriedigenden Auftrennung der Aminosäuren aus einer Probe werden

[1] Barrollier, J.: Naturwissenschaften **42**, 126 (1955).

[2] Analyt. Chemistry **28**, 1679—1684 (1956). Dptm. Agric., Pasadena, Calif. (USA).

[3] J. Amer. chem. Soc. **71**, 4121 (1949); Science (Lancaster) **109**, 539 (1949); vgl. diese Z. **135**, 59, 206 (1952); **140**, 198 (1953).

[4] Rockland, L. B., und J. C. Underwood: Analyt. Chemistry **26**, 1557 (1954); vgl. diese Z. **147**, 212 (1955).

drei Streifen mit je einem der oben genannten Lösungsmittel benötigt). Innerhalb von 30 sec trocknen die Tropfen ein. In jedem Trog werden etwa 250 ml Lösungsmittel gebraucht, die Lösungsmittelfront wandert das Papier bis etwa 15 cm vom Aufgabepunkt entfernt hinauf. Lösungsmittel A trennt hierbei Arginin (R_f 0,05) von allen N-haltigen Hauptbestandteilen ab. Die Entwicklung erfordert 7—8 Std bei einer konstanten Temperatur von ungefähr 25° C. Die Papiere werden 12 Std bei Zimmertemperatur getrocknet und dann mit der Ninhydrinlösung behandelt. Durch Lösungsmittel B werden innerhalb von 8—10 Std bei 20—25° C (R_f-Werte wenig temperaturempfindlich) Alanin (R_f 0,55), Serin (R_f 0,34), Glutaminsäure (R_f 0,26) Asparaginsäure (R_f 0,16) voneinander getrennt. Mit Lösungsmittel C können Prolin (R_f 0,43) und γ-Aminobuttersäure (R_f 0,53) von den anderen Komponenten abgetrennt, jedoch nicht vollständig gegenseitig isoliert werden. Prolin wird mit Isatinlösung (blaue Farbe auf gelbem Untergrund) bestimmt, für γ-Aminobuttersäure wird Ninhydrinlösung gewählt (Purpur neben gelber Farbe von Prolin), wobei sich beide Komponenten nicht gegenseitig stören. Die Entwicklung dauert 20—24 Std bei konstanter Temperatur von etwa 20° C. Vor dem Benetzen wird ein 30—60 min langes Trocknen bei Zimmertemperatur eingeschoben. — Für die Farbfleckentwicklung ist die Tauchtechnik angewendet und eine Nachbehandlung von 60 min bei 45° C im Trockenschrank (relative Feuchtigkeit unter 25%) für optimale Farbstoffentwicklung und maximale Farbstoffstabilität (10 Std bei Zimmertemperatur) für günstig befunden worden. Bei γ-Aminobuttersäure wird 20 min bei 60° C erhitzt, die lufttrockenen isatinbehandelten Streifen werden 10 min bei 95° C belassen. In einem Diagramm wird für Alanin der Einfluß der Erhitzungszeit bei 30, 44 und 55° C auf die Farbintensität wiedergegeben. — Die mit einem Gelbgrünfilter (Lumetron B 580) gewonnenen photometrischen Absorptions-Eichkurven sind für 6 Aminosäuren im Bereich von 0,1 bis 0,4 μg (von 0,2—0,8 μg für γ-Aminobuttersäure) linear. — Die Bestimmungen der Aminosäuren sind gut reproduzierbar (Standardabweichung aus 5 Messungen schwankt von 5—13% des Mittelwertes), die Resultate der Bestimmung der 7 Aminosäuren in Orangensaft stimmen mit den Werten anderer Autoren zumeist gut überein. Arginin und Lysin können nach der vorliegenden Methode nicht getrennt werden. D. Jentzsch

E. Pfeil und H.-J. Goldbach[1] *teilen eine papierchromatographische Bestimmungsmethode für α-Aminosäuren* mit, die auf der *photometrischen Auswertung der Kupferkomplexe der Aminosäuren* und Fällung des überschüssigen Kupfers als Phosphat beruht. — *Ausführung.* Den Aminosäurefleck befeuchtet man gleichmäßig mit 0,025 ml einer Kupfersulfatlösung von 39,3 mg $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$/100 ml Wasser (10 μg Cu/0,01 ml). Der Fleck kann direkt in üblicher Weise auf den Streifen aufgetragen sein, oder der ausgeschnittene Querstreifen eines bereits entwickelten Chromatogramms mit dem zu untersuchenden Fleck wird mit weißem Zwirn an das untere Ende eines neuen Streifens genäht. Nach dem Trocknen zieht man kurz über dem Fleck einen 1 cm breiten Querstrich mit einer Lösung von 20 g $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$/100 ml Wasser (vor Gebrauch auskochen und vor Ammoniak schützen), der etwa hochwandernde Kupferionen abfangen soll. Die gleiche Lösung verwendet man für die aufsteigende Chromatographie. Nach 30—40 min trocknet man und besprüht mit einer Lösung von 0,5 g Natriumdiäthyldithiocarbaminat/100 ml Wasser. Dabei wird der Fleck stark braunschwarz (das übrige Papier darf sich nur schwach anfärben, sonst ist das Chromatogramm zu verwerfen). Ein 3—4 cm breites Stück mit dem Fleck wird herausgeschnitten und (gegebenenfalls zerkleinert) in einem Schütteltrichter kurz mit einer Lösung geschüttelt, die aus 10 ml Ammoniak (1 Teil konz. Ammoniak + 1 Teil Wasser), 10 ml

[1] Klin. Wschr. **1956**, 194—195. Univ. Marburg.

Chloroform-Amylalkohol (1 : 1) und 2 ml obiger Carbaminatlösung besteht. Der braune Kupferkomplex geht in die organische Phase. Nach Absitzen und Filtrieren durch trockenes Filter mißt man die Extinktion bei 435 mμ gegen einen Blindwert. Der Fehler beträgt $\pm$ 5%. Das Anlegen einer Eichkurve ist empfehlenswert.

E. Müller, Würzburg

B. Buděšínský[1] verwendet zur *Bestimmung der Aminosäuren und Peptide* ebenfalls die Methode der *Überführung des Kupfers aus der Suspension des unlöslichen Kupferphosphats in den löslichen Aminosäurekomplex.* In der Lösung wird das Kupfer komplexometrisch unter Verwendung von 1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol (PAN)[2] als Indicator titriert. Der Indicator hat vor Murexid oder Brenzcatechinviolett den Vorzug, daß die Titration noch bei p_H 3 durchgeführt werden kann, bei welchem p_H-Wert die Kupferkomplexe der Aminosäure schon leicht Kupferionen abspalten. Kupferkomplexe einiger Peptide sind dargestellt und der Einfluß funktioneller Gruppen auf die Komplexbildung untersucht worden, worüber dem Original Einzelheiten zu entnehmen sind. — *Arbeitsvorschrift.* 5 ml der Lösung der betreffenden Aminosäure oder des Peptides, entsprechend etwa 0,15 mg-Äquivalenten, versetzt man in einem 10 ml-Zentrifugierröhrchen mit genau 5 ml frisch bereiteter Kupfer(II)-phosphatsuspension[3], mischt gut durch, beläßt 5 min und zentrifugiert dann 5 min lang. Von der überstehenden Lösung pipettiert man 7 ml in einen Titrierkolben, fügt 1 ml 1 m Salzsäure und 3 Tropfen 1%ige alkoholische PAN-Indicatorlösung zu und titriert mit 0,01 m Äthylendiamintetraacetatlösung (ÄDTA-Lösung) bis zum Umschlag der rotvioletten Färbung nach Gelbgrau. Unter gleichen Bedingungen führt man eine Blindbestimmung aus, zu der gewöhnlich maximal 0,05 ml ÄDTA-Lösung verbraucht werden. — Der Verf. hat die Kupferkomplexe einiger Polypeptide hergestellt und Untersuchungen über deren Konstitution und den Einfluß funktioneller Gruppen auf die Komplexbildung angestellt.

H. Freytag

Die nichtwäßrige Titration von Aminoessigsäure (AES) führt man nach G. Meland und M. I. Blake[4] wie folgt aus: Man pipettiert 1 ml der AES-Lösung in einen 150 ml-Becher, verdampft bei nicht über 70—80° C das Lösungsmittel auf dem Wasserbad, was etwa 15 min dauert, und nimmt den Rückstand unter ständigem Rühren in 50 ml Eisessig auf. Dann titriert man unter Verwendung eines Kalomel-Glaselektrodensystems mit 0,1 n Perchlorsäure (siehe unten), bis die Spannungskurve einen scharfen Umschlag zeigt (Diagramm im Original). Das Verfahren arbeitet mit einer Genauigkeit von 99,10 $\pm$ 0,19% und ist somit wesentlich genauer als die Formol-Titrationsmethode der N. F. X. — Es ist auch die visuelle Titration mit Methylviolett als Indicator anwendbar. Man titriert bis zur ersten bleibenden Grünfärbung unter Zusatz von 3 Tr. einer Lösung von 0,2 g Methylviolett in 100 ml Chlorbenzol. *0,1 n Perchlorsäure:* Man mischt in einem 1000 ml-Kolben 8,4 ml 78%ige Perchlorsäure mit 400 ml Eisessig, fügt 20 ml Acetanhydrid zu und füllt mit Eisessig bis zur Marke auf. Nach Stehen über Nacht ermittelt man den Faktor der Lösung durch Titration von Kaliumhydrogenphthalat.

K. Söllner

---

[1] Chem. Listy **50**, 1236—1240 (1956) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. Pharm. u. Biochem., Prag.

[2] Cheng, K. L., and R. H. Bray: Analyt. Chemistry **27**, 782 (1955); vgl. diese Z. **149**, 138 (1956).

[3] Herstellung vgl. W. A. Schroeder, L. M. Kay and R. S. Mills: Analyt. Chemistry **22**, 760 (1950); vgl. diese Z. **134**, 229 (1951/52).

[4] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **45**, 672—674 (1956). North Dakota Agricult. College, Fargó (USA).

Eine spektrophotometrische Methode zur Bestimmung von Cystein und verwandter Verbindungen teilen Y. Avi-Dor und J. Mager[1] mit. Sie beruht auf der Beobachtung, daß Thiolverbindungen mit Fluorbrenztraubensäure Verbindungen bilden, die charakteristische Absorptionsmaxima zeigen. Bei Fehlen einer unsubstituierten Aminogruppe liegt das Maximum zwischen 265 mμ und 275 mμ. Ist die Aminogruppe aber in α- oder β-Stellung zur SH-Gruppe vorhanden, liegt das Maximum bei 300 mμ und die Molarextinktion ist rund um das 10fache größer. Damit die Reaktion quantitativ verläuft, muß die anfallende Fluorwasserstoffsäure neutralisiert werden. — *Ausführung.* Für die Standardkurve pipettiert man 0,2 ml einer wäßrigen 0,02 m Fluorbrenztraubensäurelösung, die sich im gefrorenen Zustand 3 Monate hält, von 0,1 –1,0 ml variierende Mengen einer 0,001 m Cysteinlösung, die man aus einer 0,1 m Cysteinlösung in 0,1 n Salzsäure (bei Tiefkühlung 1 Woche haltbar) durch Verdünnen mit 0,1 n Salzsäure erhält, und soviel Wasser in eine Photozelle, daß es 2,5 ml ergibt. Als Kontrollen füllt man in eine zweite Zelle 0,2 ml Fluorbrenztraubensäure und Wasser ad 2,5 ml und in eine dritte nur 2,5 ml Wasser. Durch Zusatz von je 0,5 ml Trispuffer (p_H 8) wird die Reaktion gestartet, und nach 5 min mißt man bei 300 mμ. Bei Bestimmung von Cystein in unbekannten Proben verfährt man analog. Die Streuung liegt innerhalb 2%. Reduzierende Verbindungen dürfen nicht anwesend sein. Reduziertes Glutathion kann man bei 265 mμ bestimmen, aber günstiger ist es, das Gluthation durch Erhitzen mit 1 m Phosphorsäure nach K. Nakamura und F. Binkley[2] zu Cysteinylglycin abzubauen und dies bei 300 mμ auszuwerten. Die Fluorbrenztraubensäure wird nach I. Blank, J. Mager und E. D. Bergmann[3] synthetisiert. E. Müller, Würzburg

Über die Bestimmung von Histidin und Urocaninsäure (Imidazyl-acrylsäure) im menschlichen Schweiß berichten J. A. Král, M. Kůtová, A. Ženíšek, E. Krejčí und I. Stolz[4] in einer kurzen Mitteilung. Nicht entsalzte Proben von Schweiß werden in Mengen von je 25 μl und 50 μl auf Chromatographierpapier aufgebracht, die 25 μl-Tüpfel werden mit steigenden Mengen (0,5 μg, 1 μg, 2 μg usw.) von Histidin und Urocaninsäure versetzt. Dann wird mit dem Gemisch n-Butanol-Wasser-Essigsäure (4 : 5 : 1) 5 Std chromatographiert, die Flecken werden mit Pauly-Reagens entwickelt. Durch visuellen Vergleich werden Flecken ermittelt, die mit dem 50 μg-Fleck ohne Zusatz gleiche Intensität zeigen. Eine einfache Rechnung gibt dann den Gehalt an Histidin bzw. Urocaninsäure. Unterhalb 2 mg-% und oberhalb 16 mg-% gibt das Verfahren keine befriedigenden Resultate. — Urocaninsäure kann in papierchromatographisch erhaltenen Flecken auch *polarographisch* bestimmt werden. Der Flecken wird eluiert, die Lösung zur Trockne verdampft und der Rückstand in Acetatpuffer p_H 4,7 gelöst. Nach Entfernung des Sauerstoffs wird wie üblich polarographiert. Der Fehler der polarographischen Bestimmung ist nicht größer als $\pm$ 2%. A. Kurtenacker

Die Bestimmung von Methionin in reinen Präparaten haben F. Jančik, F. Buben und J. Körbl[5] potentiometrisch mit Hilfe von 0,1 n Jodchloridlösung und von 0,1 n, ggf. 0,01 n Kaliumbromatlösung in Anwesenheit von KBr (Pt- und gesättigte Kalomelektrode) durchgeführt. Glycin, Leucin, Isoleucin, Serin, Asparagin, Alanin, Glutamin und Phenylalanin stören die Methioninbestimmung nicht. Dagegen bewirken Cystein, Cystin und Tyrosin eine Erhöhung der Resultate. Bei

[1] J. biol. Chemistry **222**, 249—258 (1956). Inst. Biol. Res., Ness Ziona (Israel).
[2] J. biol. Chemistry **173**, 407 (1948); vgl. diese Z. **143**, 402 (1954).
[3] J. chem. Soc. (London) **1955**, 2190.
[4] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **20**, 567—568 (1956). Univ. Prag.
[5] Československ. Farmac. **5**, 515—516 (1956) [Tschechisch]. (Mit engl. u. dtsch. Zus.fass.). Forschungsinst. f. Pharmaz. u. Biochem., Prag.

der Titration mit $KBrO_3$ wird ein schärferer Potentialsprung im Äquivalenzpunkte beobachtet; diese Methode, die sich auch zur Mikrobestimmung eignet, ist also vorteilhafter als das JCl-Verfahren. — *Ausführung.* Man löst die Einwaage in 20 ml Wasser, fügt 3 ml konz. Salzsäure und 1 g KBr zu und titriert mit 0,1 n oder 0,01 n $KBrO_3$-Lösung. Der Potentialsprung im Äquivalenzpunkt beträgt bei der Titration mit 0,1 n Maßlösung über 200 mV. Bei der Titration mit 0,1 n JCl-Lösung unterbleibt der KBr-Zusatz. Der Potentialsprung beträgt hier 30—40 mV. 1 ml 0,1 n Maßlösung entspricht bei beiden Methoden 7,4603 mg Methionin.

Z. Stejskal

Über ein Trennungsverfahren von Leucin und Isoleucin berichten I. R. Hunter, K. P. Dimick und J. W. Corse[1] kurz. Das Verfahren beruht auf der Gas-Flüssigkeits-Verteilungschromatographie[2] der durch Ninhydrinoxydation entstehenden entsprechenden Aldehyde 3-Methylbutanal und 2-Methylbutanal. Unter Verwendung einer Säule mit Silicon-Celite-Mischung, die auf 69° erwärmt wird, und mit einer Trägergasgeschwindigkeit (Helium) von 23 ml/min bilden sich die Aldehydspitzen bei 43 min 55 sec bzw. 47 min 35 sec. So ist noch eines der Leucine bei 10facher Menge des anderen nachweisbar. E. Müller, Würzburg

Zur Identifizierung der optischen Antipoden der Glutaminsäure geben A. Kofler, N. Delande und A. Lacourt[3] folgendes einfaches Verfahren an: 1. Man prüft die Kristalle unter dem Mikroskop und stellt durch Erhitzen auf der Heizplatte oder unter Paraffin fest, ob ein Hydrat vorliegt (DL-Glutaminsäure). Die Antipoden sind immer wasserfrei. — 2. Durch Umkristallisieren aus konz. Alkohol bei Raumtemperatur und bei 60° C kann das Vorhandensein der DL-Glutaminsäure bestätigt werden, da neben den Kristallnadeln der racemischen Form dann die Kristallformen der Antipoden auftreten (Beschreibung im Original). Läßt man aus verdünntem Alkohol kristallisieren, so findet keine Bildung der optischen Antipoden statt. 3. Wenn die Prüfungen nach 1. und 2. negativ verlaufen, löst man mit der unbekannten Probe nacheinander je einen Kristall der reinen Antipoden in verdünntem Alkohol und läßt kristallisieren. Treten auf Zusatz der D-Glutaminsäure die typischen Nadeln der DL-Säure auf, so hat L-Glutaminsäure vorgelegen. Ergibt sich das gleiche mit L-Glutaminsäure, so ist die unbekannte Probe die D-Säure.

A. Kurtenacker

Eine Methode zur Bestimmung von Kreatin, Kreatinin, Arginin, Guanidinoessigsäure, Guanidin und Methylguanidin in biologischen Flüssigkeiten teilen J. F. van Pilsum, R. P. Martin, E. Kito und J. Hess[4] mit. Das Verfahren beruht auf der Anwendung einer modifizierten Sakaguchi-Reaktion, deren Empfindlichkeit durch Thymin um das sechsfache gesteigert wird und bei der der Hypochloritüberschuß nicht durch Harnstoff, sondern durch Thiosulfat beseitigt wird. Die Guanidinderivate, die die Sakaguchi-Reaktion nicht geben, werden in solche mit positivem Ausfall verwandelt: Kreatinin wird mit o-Nitrobenzaldehyd über Oxalylmethylguanidin zu Methylguanidin mit 95%iger Ausbeute abgebaut. Mit Kreatin verfährt man nach Umwandlung durch Hitze und Säure in Kreatinin ebenso. Guanidin wird mit Dimethylsulfat zu Methylguanidin methyliert, was aber nur unvollkommen gelingt. Die hohe Spezifität des Verfahrens wird durch das oben geschilderte Verhalten einiger Guanidinderivate gegenüber der Sakaguchi-Reaktion

[1] Chem. and Ind. **1956**, 294—295. Dpmt. Agricult. Albany, Calif. (USA).

[2] James, A. T., und A. J. P. Martin: vgl. u. a. diese Z. **142**, 449 (1954); **152**, 442 (1956). — Ray, N. H.: J. appl. Chem. **4**, 21 (1954).

[3] J. Pharmac. Belgique, N. S. **11**, 423—425 (1956). Freie Univ. Brüssel (Belgien).

[4] J. biol. Chemistry **222**, 225—236 (1956), Univ. Minneapolis, Minn. und Univ. Salt Lake City, Utah (USA).

und geeignete Trennung der anderen Derivate erreicht: Arginin wird in den hier vorkommenden Mengen durch Bariumhydroxyd-Zinksulfatfällung zurückgehalten, Guanidinoessigsäure dagegen geht in das Filtrat. Bei der Wolframsäurefällung gehen beide in das Filtrat. Aus dem Bariumhydroxyd-Zinksulfatfiltrat läßt sich Guanidinoessigsäure mit einem starken Anionenaustauscher entfernen. — *Ausführung. Guanidinoessigsäure*: 1 Teil Blut oder Serum wird mit 3 Teilen 0,3 n $Ba(OH)_2$ und 3 Teilen 5%iger $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$-Lösung in 0,033 m Biphthalatpuffer, p_H 5,0, (die beiden Lösungen müssen genau äquivalent sein) versetzt. 1 Teil Harn (keine größere Dichte als 1,01, da sonst Harnstoff stört, anderenfalls verdünnen), der 1 : 10 verdünnt worden ist, wird mit je 1 Teil der Barium- und Zinklösung versetzt. Die Ansätze werden zentrifugiert und filtriert (Auswertung s. u.). *Arginin*: 1 Teil Blut wird mit 4 Teilen Wasser, 1 Teil 10%iger Natriumwolframatlösung und möglichst schnell mit 1 Teil 0,667 n Schwefelsäure in dieser Reihenfolge versetzt. Nach 15 min zentrifugiert und filtriert man. Harn wird 1 : 30 verdünnt. Der Farbwert im Filtrat oder verdünnten Harn entspricht Arginin + Guanidinoessigsäure (Auswertung s. u.). *Kreatinin*: Je 1 ml Wolframsäurefiltrat (Blut 1 : 7) oder 1 : 200 verdünnter Harn wird in 2 Photometerküvetten pipettiert. In Küvette 1 gibt man 0,5 ml Phosphatpuffer-Schwefelsäuregemisch (s. u.) und 0,2 ml 1,25 n Natronlauge; dieser Ansatz dient als Blindwert. In Küvette 2 gibt man 1 Tropfen 7%ige alkoholische o-Nitrobenzaldehydlösung und 0,2 ml 1,25 n Natronlauge. Die Mischung bleibt 15 min stehen, wird mit 0,5 ml Phosphatpuffer-Schwefelsäuregemisch versetzt, gemischt und 10 min im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlen stellt man die Farbreaktion in beiden Küvetten an (s. u.). Kurz vor der Zugabe von Hypochlorit zum Blindwert setzt man 1 Tropfen o-Nitrobenzaldehyd zu. Die Differenz der Extinktionen ergibt den Kreatininwert. *Kreatin*: Je 1 ml Wolframsäurefiltrat (Blut 1 : 7) oder verdünnter Harn wird in 2 Photometerküvetten pipettiert. In Küvette 1 kommen noch 0,5 ml 0,15 m Citratpuffer p_H 2,2 (hergestellt durch Mischen gleicher Teile 0,15 m Monokaliumcitrat und 0,15 n Schwefelsäure), 0,2 ml 1,66 n Natronlauge und 0,5 ml Phosphat-Puffer-Schwefelsäuregemisch (s. u.). Dieser Ansatz läuft als Blindwert. Zu Küvette 2 gibt man 0,5 ml Citratpuffer, bedeckt mit einer Glaskugel, erhitzt 1,5—2 Std im siedenden Wasserbad, kühlt auf Raumtemperatur ab, setzt 0,2 ml 1,66 n Natronlauge zu und verfährt weiter wie bei Kreatinin. Die Differenz der Extinktionswerte ergibt das Kreatin (als Kreatinin). *Methylguanidin*: Mit 10 ml Blut stellt man ein Bariumhydroxyd-Zinksulfatfiltrat her (1 : 7) und läßt es durch eine Säule von ~ 15 cm Länge und ~ 15 mm ⌀ aus Amberlite IRA-400 (OH-Form) (20—50 mesh) laufen, bringt mit verd. Salzsäure auf p_H 4—6 und verdampft auf warmem Wasserbad unter Luftstrom zur Trockne. Den Rückstand löst man in 2,5 ml Wasser und benutzt 2 ml zur Farbreaktion. 1 ml Harn versetzt man mit je 1 ml Bariumhydroxyd- und Zinksulfatlösung, läßt das Filtrat über den gleichen Austauscher laufen und benutzt den Durchlauf zur Farbreaktion. *Guanidin*: Für Blut geht man ebenso vor wie bei Methylguanidin, nur mit dem Unterschied, daß der Rückstand nicht in 2,5 ml Wasser, sondern in 2 ml 4 n Natronlauge + 0,5 ml Dimethylsulfat aufgenommen wird. Man schüttelt 1 Std bei 35—40° C und stellt die Farbreaktion an 2 ml dieser Mischung an. Harn behandelt man wie bei Methylguanidin, bringt aber das Säulenfiltrat wie bei Blut-Methylguanidin zur Trockne. Die weitere Behandlung mit Dimethylsulfat ist wie bei Blut. Die Ansätze zur Farbreaktion sind für Küvetten von 2,6—3,1 ml Inhalt bemessen. Die Küvetten, die die zur Messung bestimmten Lösungen enthalten, werden im Eisbad gekühlt. Es werden folgende Lösungen nacheinander unter Mischen zugesetzt: 0,5 ml alkalische α-Naphthol-Thyminlösung (s. u.), 0,2 ml Hypochloritlösung (s. u.) und genau 1 min später 0,2 ml 2%ige Thiosulfatlösung. Man mißt bei 515 mμ. Die Farbe ist in der Kälte einige Stunden haltbar. — Modi-

fizierte Reagentien nach SAKAGUCHI. 1. a) 10%ige Natronlauge, die 10 mg Thymin/ml enthält (für Kreatinin, Kreatin, Guanidin und Methylguanidin); b) 10%ige Natronlauge, die 20 mg Thymin/ml enthält (für Arginin und Guanidinoessigsäure). 2. 0,04%ige α-Naphthollösung in Äthanol; diese Lösung wird vor Gebrauch mit der gleichen Menge alkalischer Thyminlösung gemischt; die Mischung ist 1 Tag haltbar. 3. a) 0,50%ige Natriumhypochloritlösung, hergestellt durch Auffüllen von 10 ml „Clorox" zu 100 ml mit Wasser (für Kreatinin, Kreatin, Guanidin und Methylguanidin); b) 1,0%ige Natriumhypochloritlösung (für Arginin und Guanidinoessigsäure), frisch hergestellt. *Phosphatpuffer-Schwefelsäuregemisch*: Einen 0,5 m Phosphatpuffer stellt man durch Mischen von 30 ml 0,5 n Natronlauge mit 50 ml 0,5 m Monokaliumphosphat und Verdünnen auf 100 ml her; sein pH-Wert soll 6,9—7,0 betragen. Ein Teil dieses Puffers wird mit einem Teil 1,25 n Schwefelsäure gemischt und diese Mischung mit 4 Teilen Wasser verdünnt.

E. MÜLLER, Würzburg

Der Nachweis und die Bestimmung der p-Aminobenzoesäure (PAB) im Harn erfolgt nach L. A. MOCHOV und JU. F. UDALOV[1] auf Grund der intensiv roten Farbe, die PAB mit dem Azofarbstoff 1-Amino-8-naphthol-3,6-disulfosäure (A) entwickelt. — *Ausführung.* 25 ml Harn werden mit 2 n Salzsäure angesäuert (Kongorot), dann 15 min am Rückflußkühler gekocht (um Acetyle der PAB zu hydrolysieren). Alsdann werden 0,5 g aktivierte Holzkohle (50 g Kohle, 20 min mit 250 ml 5%iger Sodalösung gekocht, filtriert, mit 2 mal 100 ml dest. Wasser nachgewaschen, 1 Std mit Dampf behandelt, bei 100—120° C getrocknet und im Exsiccator aufbewahrt) zum heißen Harn zugegeben. Man schüttelt 15 min, filtriert, wäscht mit 2 mal 10 ml Wasser und 2 mal 5 ml Äther-Alkoholgemisch (1:1) nach und trocknet (nicht über 100° C). 100 mg dieser getrockneten Kohle werden mit 9 ml dest. Wasser und 1 ml gesättigter Sodalösung 1—2 min mit Rückflußkühler gekocht, wobei PAB in Lösung geht. Man filtriert und diazotiert 2 ml der abgekühlten Lösung mit 1 ml 2 n Salzsäure und 0,5 ml 2%iger $NaNO_2$-Lösung. Nach dem Umrühren und 10 min Stehen werden 200 mg krist. Na-Acetat zugegeben und durch Umrühren aufgelöst; danach darf ein Tropfen der Lösung ein Kongorotpapier nicht bläuen (widrigenfalls noch Acetat zugesetzt wird). Jetzt wird mit A gekuppelt. In einem Kölbchen werden 2,5 ml gesättigte Sodalösung mit 1 Tr. A versetzt und nach dem Umrühren wird die diazotierte PAB zugegossen; nach kräftigem Umrühren und 15 min Stehen färbt sich die Lösung in Anwesenheit von PAB intensiv rot. Vergleichslösungen für die colorimetrische Bestimmung erhält man durch Lösen von 5 mg PAB in 250 ml Wasser; davon werden 5 ml mit 20 ml Wasser verdünnt, mit 2 n Salzsäure angesäuert und weiter wie oben behandelt; geprüft wird im DUBOSQ- oder Elektrophotometer. — Sulfanilamide stören die Bestimmung.

A. v. WILPERT

Für die Bestimmung von Glykogen in Leber und Muskeln empfehlen N. V. CARROLL, R. W. LONGLEY und J. H. ROE[2] ein Verfahren, bei dem das Glykogen aus dem Trichloressigsäurefiltrat des Gewebes mit Äthanol gefällt und dann mit Hilfe der Anthronreaktion photometrisch erfaßt wird. Die häufig benutzte Methode der Extraktion mit kochender 30%iger Kalilauge liefert nach den eingehenden Versuchen der Verff. falsche, nämlich zu hohe Werte. Die Fehler sind auf eine in die alkalische Lösung übergehende mit Anthron reagierende Substanz zurückzuführen, die allmählich hydrolysiert und dann alkalische Kupferlösung reduziert, aber kein Glykogen ist. Es ist daher unbegründet (wie es mitunter in der Literatur geschieht) von „freiem" und „gebundenem" Glykogen zu sprechen. — *Empfohlenes Verfahren.*

[1] Laborat. Delo **1956**, H. 4, 19—20 [Russisch].

[2] J. biol. Chemistry **220**, 583—593 (1956). School of Medic., Univ. Washington.

Anthronreagens. Man versetzt 500 mg gereinigtes Anthron mit 10 g reinstem Thioharnstoff und 1 l 72%iger Schwefelsäure [180 ml Wasser + 720 ml konz. Säure (D 1,84)], erwärmt unter gelegentlichem Schütteln auf 80—90° C, kühlt und bewahrt im Kühlschrank auf. Das Reagens ist 2 Wochen haltbar. — *Bestimmung.* Man homogenisiert das Gewebe mit einem passenden Volumen 5%iger Trichloressigsäurelösung in einem Mixer 3 min lang, zentrifugiert und dekantiert die überstehende Flüssigkeit durch ein Filter in einen graduierten Zylinder. Die Operationen werden mit dem Rückstand noch dreimal wiederholt. Die vereinigten Extrakte werden mit 5%iger Trichloressigsäure so weit verdünnt, daß die Endlösung 10 bis 200 μg Glykogen je Milliliter enthält. Je 1 ml dieser Lösung mischt man im Zentrifugierröhrchen mit 5 ml 95%igem Äthanol, läßt über Nacht bei Raumtemperatur oder 3 Std bei 37—40° C stehen und zentrifugiert dann 15 min lang mit 3000 U/min. Die überstehende Lösung wird sorgfältig von dem gefällten Glykogen abdekantiert. Das Glykogen wird in 2 ml dest. Wasser gelöst und die Lösung mit 10 ml Anthronreagens versetzt. Gleichzeitig setzt man eine Blindprobe mit 2 ml Wasser und eine Vergleichsprobe mit 2 ml Glucoselösung, enthaltend 0,1 mg Glucose, an und versetzt jede Lösung mit 10 ml Anthronreagens. Man bringt alle 3 Röhren verschlossen in ein kaltes Wasserbad, nach Temperaturausgleich für 15 min in ein kochendes Wasserbad, hierauf wieder in das kalte Bad. Nach neuem Temperaturausgleich mißt man die Extinktionen bei 620 mμ gegen die Blindlösung. Berechnung: mg Glykogen/100 g Gewebe $= 0{,}1 \cdot 100 \cdot 0{,}9 \cdot V \cdot E_U/(E_S \cdot G)$. In der Gleichung bedeuten V das Volumen des Extraktes, G die Einwaage an Gewebe in Gramm, E_U und E_S die Extinktionen der Probe und des Standards; 0,9 ist der Umrechnungsfaktor vom Glucosewert auf den Glykogenwert. H. Carls

Zur Bestimmung kleiner Mengen Inulin in Plasma und Harn empfiehlt A. Heyrovský[1] die Farbreaktion mit β-Indolylessigsäure. β-Indolylessigsäure reagiert mit Inulin bei Gegenwart von konz. Salzsäure unter Bildung einer purpurvioletten Farbverbindung, deren Absorptionsmaximum bei 530 mμ liegt. Die Farbintensität ist abhängig von der Konzentration der Salzsäure, der Entwicklungszeit und der Temperatur. Bei Raumtemperatur wird maximale Farbintensität erst nach etwa 15—18 Std erreicht. Im Bereich von 0—0,1 mg Inulin folgt die Kurve dem Lambert-Beerschen Gesetz, auch wenn die Farbe noch nicht ihr Maximum erreicht hat. — *Arbeitsweise.* 1 ml der Plasmafiltrate (das Plasma kann mit $CdSO_4$-NaOH, $ZnSO_4$-NaOH oder Trichloressigsäure enteiweißt werden) oder des verdünnten Urins mit einem Inulingehalt von 0,01—0,1 mg wird mit 0,2 ml β-Indolylessigsäure (man löst 0,5 g des reinen weißen Präparats in 100 ml 96%igem Äthanol) und 8 ml konz. Salzsäure versetzt. Man schüttelt gut durch, läßt das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur über Nacht stehen (die Farbentwicklung kann auch bei 37° C über eine Zeit von 60—80 min erfolgen) und mißt die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung bei 530 mμ. Für jede Reihe von Bestimmungen muß gleichzeitig eine Eichkurve aufgestellt werden, da die Extinktionsmessungen infolge der unterschiedlichen Entwicklungszeit nie bei gleicher Farbintensität erfolgen. Eine Blindwertbestimmung wird durchgeführt. Die Genauigkeit der Methode ist mit $\pm 1\%$ angegeben. K. Machner

Dextranbestimmung in Blut und Harn mit Anthron. Das von J. H. Roe[2] angegebene Verfahren beruht auf der photometrischen Auswertung des Farbkomplexes, den Dextran mit Anthron bildet. Die Eiweißfällung erfolgt mit Trichloressigsäure, was gleichzeitig einen für den Verlauf des Verfahrens günstigen p_H-Wert und die erforderliche Ionenkonzentration bewirkt. Dextran wird dann mit Alkohol gefällt,

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **1**, 470—474 (1956). Univ. Prag (Tschechoslow.).
[2] J. biol. Chemistry **208**, 889—896 (1954). George Washington-Univ., Washington.

und in der wäßrigen Lösung des Niederschlags erfolgt die eigentliche Reaktion mit Anthron. Die optimalen Versuchsbedingungen sind ermittelt worden. — *Ausführung.* Blutplasma oder Harn werden mit 5%iger Trichloressigsäure versetzt, so daß der Gehalt der Mischung an Dextran 10—200 μg/ml beträgt. Man filtriert (Harn falls erforderlich) durch säuregewaschenes Filter (z. B. Whatman Nr. 42). Vom Filtrat (Lösung) pipettiert man 1 ml in ein 15 ml Pyrex-Spitzzentrifugenglas (Doppelansatz für jede Probe) und bläst aus der Pipette 5 ml 95%igen Alkohol, der frei sein muß von Substanzen, die mit Anthron reagieren, in die Lösung. Nach Verschluß mit Gummistopfen läßt man bei Zimmertemperatur über Nacht, oder nach Verschluß mit Glaskugeln 3 Std bei 37—40° C im Wasserbad stehen und zentrifugiert dann 15 min bei 3000 U/min. Nach Dekantieren stellt man die Zentrifugengläser umgekehrt zum Trocknen auf Gaze (~ 15 min), pipettiert hierauf 2 ml Wasser an der Wand herunter ein und bringt durch leichtes Schütteln den Bodensatz in Lösung. Für jede Serie setzt man 3 Standardproben mit 2 ml Glucose-Gebrauchslösung (siehe unten) an. In die Gläser werden 10 ml Anthronreagens (siehe unten) „eingeblasen", was besonders sorgfältig geschehen muß. Jedes Glas wird gut mit einem Gummistopfen verschlossen, der mit einem etwa 10 cm langen und 3 mm weiten Glasrohr versehen ist. Die gesamten Gläser stellt man in Leitungswasser auf gleiche Temperatur ein, setzt sie 13 min in ein gleichmäßig kochendes Wasserbad und bringt sie in Leitungswasser auf etwa Raumtemperatur. Nach Überführen in Küvetten mißt man bei 620 mμ. Ein Blindwert aus 10 ml Anthronreagens und 2 ml Wasser wird mit bestimmt. — *Berechnung* für Plasma: $E_u/E_s \times 0{,}1 \times$ Plasmaverdünnung $\times$ 100 $\times$ 0,9 = mg Dextran/100 ml; für Harn: $E_u/E_s \times 0{,}1 \times$ Harnverdünnung $\times$ ml in der Probe $\times$ 0,9 = mg Dextran/Probe, worin E_u = Extinktion des Unbekannten; E_s = Extinktion der Standardlösung; 0,1 = mg Glucose in 2 ml Standardlösung; 0,9 = Faktor zur Umwandlung des Glucosewertes in den Dextranwert sind. Bei einer Extinktion von 0,387 liegt die Standardabweichung zwischen 0,36 und 0,56%. Zugesetztes Dextran wird im Plasma im Mittel zu 103,3% und im Harn zu 101% wieder gefunden. — *Glucosestammlösung*: 100 mg im Vakuum bei 60—70° C getrocknete Glucose höchster Reinheit werden in 100 ml gesättigter Benzoesäurelösung gelöst. *Gebrauchsstandardlösung*: 5 ml Stammlösung werden mit gesättigter Benzoesäurelösung auf 100 ml aufgefüllt. 2 ml dieser Lösung enthalten 0,1 mg Glucose. Benutzt man Dextran als Standard, muß man berücksichtigen, daß das Farbintensitätsäquivalent hier 111% gegenüber Glucose beträgt. *Anthronreagenslösung*: In 280 ml Wasser gießt man vorsichtig 720 ml analysenreine konz. Schwefelsäure (D 1,84). 50 mg einmal aus Alkohol umkristallisiertes Anthron löst man in 100 ml dieser Schwefelsäure. Vor Gebrauch erwärmt man auf 70—80° C und kühlt dann auf Raumtemperatur ab. Die Lösung ist nur 2 Tage haltbar.

E. Müller, Würzburg

Über die papierchromatographische Charakterisierung von Heparin, Heparinoiden und heparinartigen Stoffen berichten W. Awe und K. D. Stüdemann[1]. Rund 500 Chromatogramme, deren Ergebnisse zum Teil in umfangreichen Tabellen und Abbildungen zusammengestellt sind, lassen die Möglichkeit erkennen, Heparine hoher Qualität (USP XIV bzw. XV) trotz großer Schwankungen (10% und mehr) des R_f-Wertes zu charakterisieren. So ist auch eine Unterscheidung möglich von Roh-Heparinen, Heparinoiden (Polysaccharidschwefelsäureester, hergestellt durch Sulfurierung von Polysacchariden) und Heparinkörpern (z. B. sulfurierte Chondroitinschwefelsäure). Es wird absteigend chromatographiert auf Papier Sch.& Sch. 2045a mit einer Laufzeit von ~ 16 Std und einer Laufstrecke von 20—30 cm. Zur Anwendung kommen drei Lösungsmittelgemische: 1. n-Propanol/Wasser (30:70);

[1] Arzneimittel-Forsch. **6**, 349—352 (1956). Techn. Hochsch. Braunschweig u. Nordmark-Werke, Uetersen/Holstein.

2. n-Propanol/Wasser (40:60) und 3. n-Propanol/Wasser (45:55). Die Identifizierung erfolgt durch metachromatische Färbung mit Toluidinblau.

E. Müller, Würzburg

Die photometrische Bestimmung von Adrenalin mit Dikaliummercuritetrarhodanid bewerkstelligen É. Salgó, J. Kis und J. Morvay[1] auf Grund der von É. Salgó[2] mitgeteilten Farbreaktion. Das Absorptionsmaximum des Komplexes liegt bei 500 mμ; das Lambert-Beersche Gesetz ist erfüllt. Etwa 100—150 μg Adrenalin enthaltende Lösungsanteile werden mit 2 ml 0,1 n Dikaliummercuritetrarhodanidlösung versetzt, mit doppelt destilliertem Wasser auf 10 ml ergänzt und 25 min im kochendenWasserbad gehalten. Nach dem Erkalten wird die Extinktion im Pulfrich-Photometer mit Filter S 50 gegen eine Lösung von 2 ml Reagens und 8 ml Wasser gemessen. Die Genauigkeit beträgt $\pm$ 3%, die Erfassungsgrenze 2 μg/ml. Die Stammlösung soll sofort verarbeitet werden, da sie sich, besonders wenn Verunreinigungen zugegen sind, verfärbt. J. Plank

Die fluorimetrische Bestimmungsmethode von Adrenalin (Epinephrin) und Noradrenalin (Norepinephrin) in Blutplasma von H. Weil-Malherbe und A. D. Bone[3] haben J. A. Richardson, A. K. Richardson und O. J. Brodie[4] in einigen Punkten abgeändert und verbessert. Die Injektionsspritze, welche die anticoagulierende Mischung enthält (15 ml Blut und 5 ml Anticoagulans) wird in ein graduiertes Zentrifugenglas von 50 ml entleert, wodurch unnötige Umspülungen vermieden werden. Ferner wird das zur Chromatographie dienende aktivierte Aluminiumoxyd als Aufschlämmung in 5 ml Natriumacetatlösung in die Säule eingetragen, aus der dann mit 10 ml statt 5 ml Wasser die die Fluorescenz löschenden Substanzen weggewaschen werden. Es wird ohne Laugen filtriert und die gewünschte Filtriergeschwindigkeit durch passende Verengung des Unterteiles der Röhre und Vorbereitung des Glaswollpfropfens erreicht. Es wird stets gegen einen Blindwert gemessen. Die Messungen werden mit einem Beckman-Spektrophotometer DU durchgeführt unter Verwendung von Corning-Glasfiltern Nr. 3389 und 5113 zur Isolierung der Quecksilberlinie 436 mμ. Als sekundäres Gelbfilter dient Corning Nr. 3484. Das blaugrüne Sekundärfilter ist zusammengesetzt aus den Corninggläsern Nr. 4784, Nr. 5030 und Nr. 3384; es besitzt ein enges Durchlaßgebiet bei 510 mμ. Die Eichlösungen enthalten 1 mg je Milliliter Adrenalin bzw. Noradrenalin mit etwas Natriumhydrogensulfit und werden unter Stickstoff aufbewahrt. An Stelle der Eichlösungen kann auch ein Vergleichsstandard aus fluorescierendem Glas (Corning Nr. 3750) verwendet werden. Zugesetztes Adrenalin (I) wird so zu 93,4% $\pm$ 11,5%, Noradrenalin (II) wird zu 90,3% $\pm$ 9,9% wiedergefunden. In 15 ml Blut können noch 0,25 μg I und 0,5 μg II exakt bestimmt werden. J. Eisenbrand

Einen papierchromatographischen Nachweis für Phenothiazin-Derivate im Harn beschreiben M. Frahm, E. Fretwurst und K. Soehring[5]. Man filtriert 50 ml mit Salzsäure auf p_H 4 angesäuerten Harn, bringt das Filtrat mit 25%iger Kalilauge auf p_H 10 und schüttelt dieses zweimal mit je 50 ml Äther (Ae) aus. Nachdem man die vereinigten Ae-Auszüge dreimal mit je 5 ml 0,01 n Salzsäure ausgeschüttelt hat,

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **62**, 235—236 (1956) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus. fass.). Medizin. Univ., Szeged (Ungarn).

[2] Diese Z. **138**, 101 (1953).

[3] Biochemic J. **51**, 311 (1952).

[4] J. Lab. clin. Med. **47**, 832—834 (1956). Medical Coll. of South Carolina, Charleston, S. C. (USA).

[5] Klin. Wschr. **1956**, 1259—1262. Univ. Hamburg.

alkalisiert man die wäßrig-sauren Extrakte auf p_H 10 und schüttelt sie wieder dreimal mit je 20 ml Ae aus. Die mit wasserfreiem Natriumsulfat getrockneten Ae-Auszüge dampft man nunmehr zur Trockne ein, dann löst man den Trockenrückstand in 0,1 ml 0,01 n Salzsäure und bringt einen aliquoten Teil dieser Lösung auf die Startlinie eines Sch. & Sch. Nr. 2045b-Streifens von 40 cm Länge, so daß der Durchmesser des Fleckens höchstens 0,7 cm beträgt. Als mobile Phase dient eine durch 30 min langes Schütteln hergestellte Mischung von 6 Tl. Butanol, 18 Tl. Amylalkohol, 4 Tl. Eisessig und 5 Tl. Wasser. Bei einer ggf. vorhandenen Trübung gibt man noch einige Tropfen Eisessig zu. Man chromatographiert nach bekanntem Verfahren aufsteigend 14—16 Std, wobei man 10—20 μg der Reinsubstanz als Leitchromatogramm mitlaufen läßt und trocknet dann an der Luft. Zur Sichtbarmachung der Substanzen besprüht man mit dem nach R. Munier und M. Macheboeuf[1] abgeänderten Dragendorff-Reagens oder mit einer Lösung von 10 ml konz. Schwefelsäure (D 1,84) in 90 ml Äthanol. Im ersten Falle erscheinen die Flecke sofort orangefarben auf gelblichem Grunde, wobei noch 2 μg Substanz deutlich erkennbar sind. Mit Schwefelsäure-Äthanol-Lösung läßt sich noch 0,5 μg Substanz als roter bzw. rotvioletter Flecken besonders nachweisen, wenn das Papier im warmen Luftstrom getrocknet wird. Die Färbung beginnt jedoch nach 24 Std abzublassen und das Papier wird innerhalb von 3 Tagen durch die Säure zerstört. Verff. ermittelten für *Chlorpromazin* (*Megaphen*) R_f 0,67—0,84, für *Promethazin* (*Atosil*) R_f 0,60—0,72 und für *N-Methylpiperidyl-3-methyl-phenothiazin* (*Pacatal*) R_f 0,70—0,81.

K. Söllner

Zur Bestimmung des Cholesterins im klinischen Laboratorium hat M. Gethmann[2] die Methode von B. Zak u. Mitarb.[3] als allen Anforderungen entsprechend befunden. Verf. beschreibt noch einmal die genauen Versuchsbedingungen.

H. Pelzer

Die Trennung der sauren Vorstufen von Cholesterin durch Säulenchromatographie wird von L. F. Adamson und D. M. Greenberg[4] angegeben. Es gelingt mit Hilfe einer Silicagelsäule Gemische bekannter bzw. mutmaßlicher Vorstufen des Cholesterins, wie *Essigsäure*, *β,β-Dimethylacrylsäure*, *β-Hydroxyisovaleriansäure*, *β-Hydroxy-β-methylglutarsäure* und *β-Methylglutaconsäure* zu trennen. Die Präparierung des Silicagels, der Säule und der Lösungsmittel für die Elution sind von D. S. Kinnory, Y. Takeda und D. M. Greenberg[5] beschrieben. Gewebeeiweiß muß vor der Chromatographie durch Fällung mit 0,1 Vol 2 m Perchlorsäure entfernt werden. Nach Abzentrifugieren und zweimaligem Waschen des Eiweißniederschlages mit wenig Wasser (etwa 1 ml) erfolgt die Fällung der überschüssigen Perchlorsäure durch Zugabe von wenigen Tropfen 20%iger $KHCO_3$-Lösung (bis p_H 7 erreicht ist). Nachdem das $KClO_4$ durch Zentrifugieren abgetrennt ist, wird der p_H-Wert mit verd. Natronlauge auf 8 eingestellt und die Lösung in einem heizbaren Vakuumexsiccator zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird angesäuert, in wenig Wasser gelöst, die Salze werden durch Zugabe von Aceton-Alkohol (1 : 2) gefällt und durch Zentrifugieren entfernt. Die erhaltene klare Lösung wird dann wiederum auf p_H 8 eingestellt, zur Trockne verdampft, der Rückstand

[1] Bull. Soc. Chim. biol. **33**, 846 (1951); vgl. diese Z. **137**, 120 (1952/53).

[2] Röntgen- u. Laborat.-Praxis **9**, 167—170 (1956). Medizin. Akad. Düsseldorf.

[3] Zak, B., R. C. Dickenman, E. G. White, H. Burnett u. P. J. Cherney: Amer. J. clin. Pathol. **24**, 1307 (1954); Zak, B., u. N. Ressler: Amer. J. clin. Pathol. **25**, 433 (1955).

[4] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **18**, 516—518 (1955). Univ. Berkeley, Calif. (USA).

[5] J. biol. Chemistry **212**, 379, 385 (1955); vgl. diese Z. **149**, 316 (1956).

angesäuert und die saure Lösung in die Säule gegeben. — An einem Gemisch bekannter Zusammensetzung konnte die Brauchbarkeit des Verfahrens bewiesen werden. β,β-Dimethylacrylsäure, Essigsäure, β-Methylglutaconsäure und β-Hydroxyisovaleriansäure ließen sich mit einem Gemisch aus Äther-Petroläther (1 : 1) in der genannten Reihenfolge und die β-Hydroxy-β-methylglutarsäure mit reinem Äther getrennt eluieren. In einem Diagramm ist auch die Trennung von Säuren aus einem Homogenat aus Rattenleberschnitten, die mit $CH_3{}^{14}COONa$ inkubiert worden waren, bei gleichzeitiger Aufzeichnung der Aktivität der eluierten Substanzen wiedergegeben. Es konnte immer Aktivität festgestellt werden, wenn Säuren eluiert wurden. Unmittelbar vor der Chromatographie zugegebene Säuren konnten praktisch quantitativ wiedergefunden werden. Dies war bei Zugabe zum Homogenat vor der Inkubation nicht der Fall (Essigsäure 174%, β-Hydro-β-Methylglutarsäure 250%). H. Kathen

Eine mikrochemische Identifizierung von radioaktiven und nichtradioaktiven Steroiden läßt sich nach D. L. Berliner und H. A. Salhanick[1] mit der Isotopenverdünnungsmethode erreichen. Im Gegensatz zu dem Verfahren mit Umkristallisation bis zur konstanten spezifischen Aktivität wird nun nach Zusatz der Substanz mit bekannter Konstitution und spezifischer Aktivität wiederholt in geeigneten Verteilungssystemen papierchromatographisch aufgetrennt. Dabei kann auch noch eine chemische Umwandlung, wie z. B. Acetylierung oder Oxydation mit CrO_3 zwischengeschaltet werden. Bleibt die spezifische Aktivität nach mehreren aufeinander folgenden Trennungen konstant, so kann nach den bekannten Methoden[2] die ursprünglich vorhandene Menge der identifizierten Substanz berechnet werden. Bei genügend hoher spez. Aktivität der eingesetzten Reinsubstanz lassen sich noch bis 0,01 μg und weniger quantitativ erfassen. Will man andererseits ein Abwandlungsprodukt in einem Stoffwechselversuch mit radioaktiven Steroiden identifizieren, so verdünnt man mit einer geeigneten Menge (z. B. 10 μg) inaktiver Substanz der vermuteten Konstitution und führt wie oben die Trennungsgänge bis zur wiederholt konstanten spezifischen Aktivität durch. Die Messung der Radioaktivität nach erfolgter Chromatographie kann auf dem Papier erfolgen, wobei aber nach Erfahrung der Verff. mit dem Faktor 4,2 zur Eliminierung der Selbstabsorption des Papiers multipliziert werden muß. H. Pelzer

Papierchromatographie konjugierter Steroide. K. Andreč und M. Kreč[3] haben beobachtet, daß sich reine konjugierte Steroide papierchromatographisch am besten in Veronalpufferlösung vom p_H-Wert 7 oder 9 trennen lassen und daß sich die gleichen R_f-Werte feststellen lassen, wenn nach Kellie gewonnener Harnextrakt mit reinen Steroiden versetzt wird. Es wird mit Sch. & Sch.-Papier 2043a (2 × 30 cm) gearbeitet, das zur Reinigung mit einem Gemisch aus Methanol, Äthanol und Benzol zu gleichen Volumenteilen extrahiert worden ist. 50 μg Substanz, in Äthanol gelöst, werden aufgegeben. Identifiziert wird mit $SbCl_3$-Reagens nach Heuschem im UV-Licht und mit $SbCl_5$-Reagens ($SbCl_5$, Eisessig und Essigsäureanhydrid wie 1 : 5 : 2) im Tageslicht. Bei p_H 7 bzw. 9 werden folgende R_f-Werte gefunden: *Pregnandiolglucuronat* 0,59 bzw. 0,63, *Oestriolglucuronat* 0,57 bzw. 0,55, *Dehydroisoandrosteronsulfat* 0,74 bzw. 0,79. Bei p_H 7 werden für *Androsteronsulfat* und *Testosteronsulfat* die R_f-Werte 0,77 bzw. 0,76 erhalten.

K. Cruse

---

[1] Analyt. Chemistry **28**, 1608—1610 (1956). Univ. Salt Lake City, Utah (USA).

[2] Hevesy, G.: Radioactive Indicators, Interscience, New York 1948.

[3] Bull. scient. Conseil Acad. R. P. F. Yougosl. **2**, 103—104 (1956). Chem. Inst. d. Akademie Ljubljana (Jugoslawien).

Zur Bestimmung von Cholsäure im Bilichol gibt J. Bednář[1] folgendes Verfahren an, bei dem die Probe zunächst verseift und dann photometrisch erfaßt wird: Eine Einwaage von 0,01—0,04 g spült man mit 2 ml 60 vol-%igem Äthanol oder Methanol in einen Kochkolben und fügt 1 ml 1,5 n Salzsäure hinzu. Nach dem Auflösen erwärmt man unter Rückfluß zu mäßigem, 30 min langem Kochen. Dann verdampft man den Kolbeninhalt mit dem zum Nachspülen verwendeten 60%igen Alkohol auf dem Wasserbad zur Trockne. Die ganze Operation soll 25—30 min dauern. Den Trockenrückstand löst man in der Wärme mit 3 ml 60 vol-%iger Essigsäure, füllt im 10 ml-Meßkolben mit der Essigsäure zur Marke auf und bestimmt die freie Cholsäure photometrisch nach der US-Pharmakopoe XIII mittels der Farbreaktion mit Furfurol und Schwefelsäure. — *Tabletten* mit Talcum und 10% Stearinsäure behandelt man mit dem 60 vol-%igen Alkohol, schüttelt 30 min, füllt mit diesem Alkohol zu 25 ml auf, filtriert und verfährt mit 2 ml des klaren Filtrats nach Zusatz von 1 ml verdünnter Salzsäure wie oben beschrieben. — Von *Dragées* entfernt man die Hülle, reinigt und trocknet den Inhalt, der dann in 25 ml Alkohol gelöst nach 30 min langem Schütteln filtriert wird und von dessen Filtrat man 2 ml wie oben weiterverarbeitet. Die Genauigkeit der Bestimmung beträgt ± 5%.

H. Freytag

Zur Bestimmung von Corticoiden mit Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) haben H. Schriefers und W. Korus[2] die Methode von W. J. Mader und R. R. Buck[3] wie folgt abgeändert: Zu 5 ml Hormonlösung (in 95%igem Äthanol) werden 0,5 ml TMA-Stammlösung (10 ml 10%iges Trimethylammoniumhydroxyd mit 95%igem Äthanol auf 100 ml) und genau 30 sec später 0,5 ml TTC (0,5%ig in 95%igem Äthanol) zugegeben. 30 min nach dem TTC-Zusatz erfolgt Messung im Photometer bei 509 mμ. Bei Küvetten von 2 cm Schichtdicke lassen sich auf diese Weise noch 2 μg Cortison/ml Ansatz gut erfassen. Das beschriebene Verfahren stellt bezüglich TMA-Einwirkungszeit, Farbentwicklungs- und Meßzeit, Lichteinwirkung (es wird bei Ansatz und Farbentwicklung schwaches Rotlicht empfohlen) und Reaktionstemperatur (22—25°C) optimale Versuchsbedingungen dar. Es hat sich auch bei Reihenanalysen nach Stoffwechseluntersuchungen mit Cortison an Leberschnitten bewährt.

H. Pelzer

Zur polarographischen Bestimmung von Ketosteroiden, speziell von *Cortison* und *Prednison* im Gemisch, geben P. Kabasakalian, S. deLorenzo und J. McGlotten[4] folgende einfache Vorschrift an: Die Probe wird auf der Mikrowaage eingewogen, in 5 ml Methanol gelöst, mit 1 ml Pufferlösung versetzt (1 m Natriumacetat-Essigsäure, p_H 5,5) und auf 10 ml aufgefüllt. In einer 3 ml-Zelle wird dann 10 min mit Stickstoff behandelt und polarographiert ($m^{2/3}t^{1/6} = 1{,}80\ mg^{2/3}\ sec^{-1/2}$ bei offenem Stromkreis in 0,1n KCl-Lösung). Die Stufenhöhen ($E_{1/2} = -1{,}20$ V bzw. — 1,36 V gegen gesätt. Kalomelelektrode für Prednison bzw. Cortison) werden als Differenz des Diffusionsstromes bei —0,90 V und —1,31 bzw. —1,47 V bestimmt und durch Vergleich mit einer Blindprobe korrigiert. Mit Hilfe der an Eichkurven ermittelten Diffusionsstromkonstanten k und k' bei — 1,31 bzw. — 1,47 V (Index 1 bzw. 2) wird wegen der Überlappung der Stufen nach den Gleichungen

$$x = \frac{i_1 k'_2 - i_2 k'_1}{k_1 k'_2 - k_2 k'_1} \text{ bzw. } y = \frac{k_1 i_2 - k_2 i_1}{k_1 k'_2 - k_2 k'_1}$$

ausgewertet. Bis zu 1 mg/ml Prednison bzw. Cortison lassen sich so auf 3—4% genau bestimmen. Die Genauigkeit

[1] Československ. Farmac. **5**, 157—158 (1956) [Tschechisch]. (Mit engl. u. dtsch. Zus.-fass.) Staatsanst. Arzneimittel-Kontrolle Prag (ČSR).

[2] Naturwissenschaften **43**, 517—518 (1956). Univ. Bonn.

[3] Analyt. Chemistry **24**, 666 (1952); vgl. diese Z. **139**, 78 (1953).

[4] Analyt. Chemistry **28**, 1669—1670 (1956). Schering Corp., Bloomfield, N. J.

erhöht sich auf 1%, wenn die Mischung über 90% *eines* Ketosteroids enthält und die entsprechenden Stromkonstanten verwendet werden. K. CRUSE

Den Einfluß der Zeit auf die Fluorescenzstärke von Oestrogenen untersuchen H. S. STRICKLER, R. C. GRAUER und M. R. CAUGHEY[1]. Sie arbeiten nach der von ENGEL u. Mitarb.[2] beschriebenen Methode zur quantitativen Bestimmung von Oestrogenen. Bei den dort verwendeten Säureverdünnungen ist die Fluorescenz nicht stabil. Ihre Abnahme folgt im Idealfall einer logarithmischen Funktion. Die unspezifische Fluorescenz der Verunreinigungen bei biologischem Material ist zeitlich konstant. Um sie möglichst zu verringern, führen Verff. vor der Bestimmung der Oestrogene des Harns eine weitgehende Reinigung durch. Der Harn wird wie üblich extrahiert und der mit Alkali ausschüttelbare Teil einer Verteilungschromatographie an Celite nach W. S. BAULD[3] oder einer Gegenstromverteilung mit dem System von W. S. BAULD[3] (70% Methanol — 30% Wasser/Äthylenchlorid) unterworfen. Es wird in jedem Fall empfohlen, die erhaltenen Oestrogenfraktionen einzeln noch einmal über eine Celite-NaOH-Säule[4] zu reinigen. Bei einem inneren Säulendurchmesser von 10 mm werden bei Oestron die ersten 5 ml (Gesamt 80 ml), bei Oestradiol die ersten 55 ml (Gesamt 170 ml) Benzol-Eluat verworfen. Zur Reinigung der Oestriolfraktion genügt eine Verteilung zwischen 40% Äthylacetat — 60% Cyclohexan und 31,6% Äthanol — 68,4% Wasser (K für Oestriol = 0,83). Die obere Phase wird verwendet. Um bei den Messungen auch die letzte unspezifische Fluorescenz zu eliminieren, werden von jeder Fraktion 2 Proben entnommen. Der einen davon setzt man eine bekannte Menge des betreffenden Steroids zu. Die Messung der beiden Proben erfolgt dann unmittelbar nach der Fluorescenzentwicklung (Zeit 0) und noch einmal zu einer Zeit t (z. B. 24 Std). Die tatsächliche Menge Oestrogen ergibt sich dann aus der Gleichung $x = \frac{f(G_0 - G_t)}{[(G_a - G)_0 - (G_a - G)_t]}$. Darin bedeuten x = gesuchte Menge Oestrogen in Mikrogramm, f = zugesetzte Menge reines Oestrogen in Mikrogramm, G = Galvanometerausschlag der Probe ohne Zusatz, G_a = Galvanometerausschlag der Probe mit Zusatz. — Die mathematische Ableitung der Formel ist dem Original zu entnehmen. H. PELZER

Zur analytischen Untersuchung der handelsüblichen Leberextrakte liefert J. BRAUN[5] eine Zusammenstellung der einschlägigen Literatur (119 Zitate) und eine kritische Besprechung der qualitativen und quantitativen Proben unter besonderer Berücksichtigung von *Vitamin* B_{12}. Die fremden und eigenen Befunde über therapeutische, chemische, physikalisch-chemische und mikrobiologische Eigenschaften der Extrakte sind übersichtlich angegeben und teilweise in umfangreichen Tabellen zusammengestellt. Dabei sind neben den verschiedenen Bestimmungsmethoden von B_{12} noch die für Eisen, Kupfer, Zink, Kobalt, Schwefel, Phosphat, Gesamtstickstoff, Eiweißstickstoff, Aminostickstoff, Aminosäuren, Gallensäuren, Vitamine und Histamin in den Leberextrakten angegeben. E. MÜLLER

---

[1] Analyt. Chemistry **28**, 1240—1243 (1956). Alleghany General Hosp., Pittsburgh, Pa. (USA).

[2] ENGEL, L. L.: Recent Progr. Hormone Res. **5**, 335 (1950); ENGEL, L. L., W. R. SLAUNWHITE jr., P. CARTER and P. C. OLMSTEAD: J. biol. Chemistry **191**, 621 (1951).

[3] Biochemic. J. **59**, 294 (1955); vgl. diese Z. **150**, 154 (1956).

[4] BITMAN, J., and J. F. SYKES: Science **117**, 356 (1953).

[5] J. Pharmac. Belgique N. S., **11**, 117—174 (1956). Service de Contrôle des Médicaments.